

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

NOUVELLES EXPÉRIENCES sur la crépitine et l'actino-congestine (anaphylaxie et immunité)

PAR CHARLES RICHET

§ I. — *Crépitine et détermination de sa toxicité.*

En poursuivant mes recherches sur la crépitine (toxine extraite de *Hura crepitans*), j'ai pu tout d'abord vérifier et confirmer quelques-uns des faits que j'avais antérieurement établis (1). Il ne me paraît pas superflu de les publier; car, en des questions aussi délicates, la confirmation n'est pas chose indifférente. Trop souvent on appuie des conclusions sur un petit nombre d'expérimentations. Seule la répétition des expériences permet une base stable sur laquelle on peut s'appuyer pour aller plus avant.

Avec l'ancienne crépitine, j'ai pu constater tout d'abord que, conservée à l'état de poudre sèche, elle ne perdait nullement ses propriétés toxiques. En avril et en décembre 1909, sa toxicité était restée la même.

J'ai pu ainsi confirmer par de nouveaux faits la dose toxique absolue de cette crépitine.

Voici un tableau faisant suite au tableau de la page 751 du précédent mémoire, et dans lequel j'intercale les chiens n^{os} 26 à 37, qui se trouvaient indiqués déjà. La dose maximum de crépitine injectée a été de 0^{gr},002 par kilogramme.

(1) Voy. *Etudes sur la crépitine* (Annales de l'Institut Pasteur, oct. 1909, XXIII, 745-800).

NUMÉROS	NOMS DES CHIENS	DOSE DE CRÉPITINE en milligr. par kil.	DURÉE DE LA SURVIE en jours.
26	<i>Anda</i>	2.0	9
104	<i>Mosquitos</i>	2.0	8
27	<i>Brésil</i>	1.9	33
28	<i>Assaku</i>	1.5	13
105	<i>Huron</i>	1.45	7
29	<i>Coudor</i>	1.40	10
106	<i>Santa</i>	1.40	8
107	<i>Missouri</i>	1.35	6
30	<i>Trinite</i>	1.30	16
108	<i>Gomez</i>	1.20	12
109	<i>Havana</i>	1.15	21
31	<i>Uruguay</i>	1.10	32
110	<i>Potomac</i>	1.0	10
111	<i>Chicago</i>	1.0	13
32	<i>Santos</i>	1.0	survit.
112	<i>Kentucky</i>	1.0	survit.
113	<i>Lille</i>	0.95	survit.
114	<i>Pau</i>	0.90	survit.
115	<i>Mexico</i>	0.82	survit.
116	<i>Toronto</i>	0.80	18
33	<i>Valparaiso</i>	0.76	survit.
117	<i>Kinley</i>	0.75	survit.
34	<i>Diafoirus</i>	0.50	survit.
35	<i>Magellana</i>	0.42	survit.
36	<i>Portugal</i>	0.40	survit.
37	<i>Jamaico</i>	0.26	survit.
118	<i>Philadelphie</i>	0.20	survit.
119	<i>York</i>	0.20	survit.
120	<i>Quebec</i>	0.20	survit.

L'examen de ce tableau montre avec quelle précision se peut déterminer la dose toxique.

Au-dessus de 0^{gr}001, il n'y a eu que deux cas de survie *Kakatoa* (n° 15) et *Santa-Fé* (n° 25). Les 35 autres chiens sont tous morts. Nous pouvons donc considérer ces deux cas de *Kakatoa* et de *Santa-Fé* comme étant tout à fait exceptionnels. C'étaient des animaux ayant une immunité naturelle individuelle; fait très obscur encore, mais dont on connaît maints exemples dans l'histoire de toutes les toxines.

Le cas de *Kakatoa* (chien demi-griffon, demi-épagneul, à longs poils), est singulier à ce point de vue. Après la très forte dose de 0,004 qui n'a eu aucun effet, il ne maigrit nullement, n'est pas malade un seul instant, et du 18 juin au 27 octobre, son poids augmente de 12^k,4 à 13^k,7. Alors, le 27 octobre, il reçoit de nouveau 0,005 de crépitine, c'est-à-dire 5 fois plus que la dose mortelle. Nul phénomène de réaction, ni même d'anaphylaxie. Même

(1). Injection faite dans le péritoine.

à supposer que j'eusse commis une erreur dans l'expérience du 18 juin, l'expérience du 27 octobre aurait dû amener, en 5 à 8 jours, la mort de *Kakatoa*. Pourtant il n'en a pas plus ressenti les effets la seconde fois que la première. *Il a été réfractaire aussi bien à l'intoxication qu'à l'anaphylaxie.*

Ajoutons que cette absence de réaction n'existait que contre la crépitine, car le 7 mars ($P = 13,0$), étant d'ailleurs en parfaite santé, il meurt rapidement après injection de $0^{\text{gr}},065$ d'actino-congestine.

Quant à *Santa-Fé*, elle a résisté à l'injection de $0^{\text{gr}},0024$, mais elle a été extrêmement malade, son poids s'est abaissé à 65 0/0 de son poids primitif, et elle a réagi à l'injection d'épreuve par une réaction anaphylactique des plus intenses. Le cas de *Kakatoa* reste donc inexplicable, paradoxal et isolé.

En éliminant *Kakatoa* et *Santa-Fé*, il nous reste 35 chiens, ayant reçu une dose supérieure à 0,001, et qui sont morts tous.

Au dessous de $0^{\text{gr}},001$, nous avons 13 chiens, dont un seul est mort (*Toronto*) au bout de 18 jours. Nous pouvons donc considérer comme non mortelles les doses inférieures à 0,001.

Et, quant à la dose même de $0^{\text{gr}},001$, elle est exactement à la limite; puisque, sur 4 chiens ayant reçu cette dose, 2 ont survécu et 2 sont morts.

La durée de la vie est, dans l'ensemble, proportionnelle à la dose. Mais cette proportionnalité n'apparaît que si l'on fait une moyenne portant sur un assez grand nombre de chiffres.

On a alors (en éliminant *Tokantina*, morte rapidement, et, ayant présenté des phénomènes immédiats d'intoxication — anaphylaxie naturelle? —) le tableau suivant :

NOMBRE DE CHIENS	DOSES EN MILLIGR. par kil.	DURÉE MOYENNE DE LA vie en jours.
III	de 65 à 19.	1.
X	de 13.8 à 5.15	5.4
XI	de 4. à 2.	10.0
XI	de 1.9 à 1.1	18.0

Le second fait que j'ai vérifié, c'est la résistance extrême des très jeunes chiens à des doses de crépitine qui sont mortelles pour l'animal adulte. Je me contente de présenter l'ensemble

de ces résultats dans un tableau (qui complète et fortifie les données précédemment publiées).

Doses chez les jeunes chiens.

NUMÉROS	NOMS	AGE approximatif.	DOSES en milligr. par kil.	SURVIE en jours.
38	<i>Santiago</i>	15 jours.	36.	5
39	<i>Morena</i>	15 jours.	26.	9
40	<i>Caramba</i>	10 jours.	18.	11
41	<i>Coimbra</i>	8 jours.	6.2	survit.
42	<i>Réal</i>	1 mois.	5.5	survit.
43	<i>Ferrol</i>	4 mois.	4.1	survit.
121	<i>Texas</i>	3 mois.	4.0	survit.
44	<i>Lisbonne</i>	1 mois.	4.0	10
45	<i>Teneriffa</i>	4 mois.	3.9	survit.
46	<i>Ciudad</i>	1 mois.	3.4	survit.
47	<i>Péry</i>	1 mois.	3.4	10
122	<i>Pizarra</i>	4 mois.	3.0	survit.
123	<i>Vera Cruz</i>	4 mois.	3.0	survit.
124	<i>Arkansas</i>	4 mois.	3.0	35
125	<i>Cortez</i>	4 mois.	3.0	survit.
48	<i>Cocotte</i>	4 mois.	2.5	survit.
49	<i>Patagonia</i>	3 mois.	2.1	survit.

Il n'y a pas à insister davantage sur cette immunité des jeunes chiens. Elle est, comme on voit, tout à fait remarquable, puisque des chiens de 3 à 4 mois peuvent supporter, sans mourir, des doses 3 fois plus fortes que les adultes; et que des chiens plus jeunes, c'est-à-dire de moins d'un mois, n'ont pas succombé à des doses 6 fois plus fortes que les doses mortelles pour les adultes.

Quant aux effets de l'hémorrhagie, j'avais constaté que l'hémorrhagie rend les chiens énormément plus sensibles à l'action de la crépitine, comme si le sérum contenait une antitoxine naturelle, normale, atténuant les effets du poison, et j'avais donné des exemples très nets (*Miramira*, *Gallapaga*, et tableau de la page 767). A ces cas, je puis en ajouter un autre, très démonstratif aussi.

A *Kingston* (de 14^k,8), chien bull très vigoureux, on fait perdre 750 grammes de sang à 4 h. 10 (soit 5 0/0 de son poids). Après hémorrhagie, il est très abattu; mais, à 4 h. 50, il se lève, se remet à marcher, et à 6 heures il est à peu près remis. Alors, à 6 heures, on lui injecte 0^{gr},0019 de crépitine, dose qui n'est mortelle que vers le 12^e jour. Pourtant il est tout de suite extrême-

ment malade, et meurt à 9 h. 1/2 du soir, le même jour. Le pouvoir protecteur du sang normal est donc démontré.

Le troisième point sur lequel a porté la vérification des faits antérieurs est relatif à l'immunité acquise. J'ai pu en effet pousser l'immunisation plus loin; j'étais arrivé à la dose maximale de 0,005, compatible avec la vie : je suis arrivé à la dose de 0,011.

Dans ce tableau, je comprendrai les chiens traités aussi bien par la crépitine ancienne que par une nouvelle préparation de crépitine (que j'appellerai crépitine noire et dont je parlerai plus loin), à peu près aussi toxique que la crépitine ancienne, mixte.

NUMÉROS	NOMS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	SURVIE EN JOURS
45	<i>Ténériffa</i>	82.	25.
	<i>Crépita</i>	66.	3 heures.
48	<i>Cocotte</i>	14.	7.
127	<i>Hudson</i>	11.	survit.
128	<i>Lille</i>	10.	survit.
	<i>Indiano</i>	9.3	2.
53	<i>Panama</i>	8.3	survit.
	<i>Crépita</i>	7.8	survit.
96	<i>Romulus</i>	7.5	5.
35	<i>Magellana</i>	7.5	5.
87	<i>Macaqua</i>	7.2	8.
55	<i>Alméida</i>	6.0	3.
32	<i>Santos</i>	5.5	0.5
88	<i>Funchal</i>	5.2	6.
15	<i>Kakatoa</i>	5.0	survit.
85	<i>Cordillero</i>	5.0	survit.
82	<i>Banana</i>	5.0	12.
65	<i>Péruvia</i>	5.0	survit.
89	<i>Acajou</i>	4.9	7.
50	<i>Uruba</i>	4.7	7.
53	<i>Panama</i>	4.5	survit.
90	<i>Cannibale</i>	4.5	(mort en?)
91	<i>Pomo</i>	4.3	7.
64	<i>Manzuma</i>	4.3	0.3
69	<i>Florida</i>	4.1	survit.
92	<i>Arequipa</i>	4.1	(mort en?)
94	<i>Vincent</i>	4.1	7.
25	<i>Santa-Fé</i>	4.1	0.3
93	<i>Pédro</i>	4.1	10.

Ainsi certains chiens ont pu survivre à des doses 8 à 10 fois plus forte que la dose mortelle (*Hudson*, *Lille*, *Panama* et *Crépita*). Mais l'immunisation n'a pu être poussée plus loin. *Crépita*, qui avait résisté à l'injection de 0,0078, a succombé rapidement à l'injection de 0,066; *Cocotte*, qui avait résisté à 0,005, a succombé à 0,014.

L'histoire de cette chienne est assez intéressante. En effet, après l'injection de l'énorme dose de 0^{gr},014 (c'est-à-dire 14 fois la dose mortelle), *Cocotte* n'a presque pas d'anaphylaxie, quoique ayant de la diarrhée, des démangeaisons et de l'hébétéude, avec faiblesse. L'injection a été faite le 3 mars; et elle n'est morte que le 10 mars (dans la nuit du 9 au 10 mars).

Vu le grand nombre d'immunisations que j'ai ainsi tentées, et en faisant d'ailleurs toutes mes réserves sur les procédés nouveaux qu'on pourra employer, il me paraît probable qu'on ne dépassera jamais beaucoup la dose de 0,010 (c'est-à-dire 10 fois plus forte que la dose mortelle). Et encore, pour arriver à cette immunisation, aura-t-on de nombreux décès à constater. Pour la crépitine, comme pour les autres toxines connues, l'immunisation contre des doses fortes est toujours assez irrégulière, avec des écarts individuels notables.

Sur les chiens immunisés et ayant survécu à des doses supérieures à 0,004, l'anaphylaxie a été en général faible ou nulle.

NOMS	DOSE en milligrammes.	ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES
<i>Hudson</i>	11.	Très faible. Un peu de diarrhée.
<i>Lille</i>	10.	Très faible. Un peu d'hébétéude.
<i>Panama</i>	8.3	Très faible. Uniquement prurit.
<i>Crepita</i>	7.8	Faible. Prurit assez fort.
<i>Kakatoa</i>	5.0	Très faible. Un peu de diarrhée.
<i>Péruvia</i>	5.0	Très forts. Coma. État grave.
<i>Panama</i>	4.5	Nuls.
<i>Florida</i>	4.1	Forts.

Il ne faudrait pas en conclure qu'il y a incompatibilité absolue entre l'anaphylaxie et l'immunité; car à des doses inférieures à 0,004, chez les chiens qui ont survécu à l'injection seconde, on trouve quelquefois de l'anaphylaxie. (Voy. le tableau p. 615).

Mais, dans l'ensemble, il y a, chez les animaux immunisés qui doivent survivre, des anaphylaxies moindres que chez les chiens qui doivent mourir.

L'immunisation fait que l'anaphylaxie est beaucoup moins régulière avec la crépitine qu'avec l'actino-congestine. Jamais avec l'actino-congestine l'anaphylaxie ne fait défaut, tandis qu'avec la crépitine, toutes les conditions paraissant favorables, quelquefois il n'y a que faible anaphylaxie. Il me paraît évident,

NOMS	DOSE EN MILLIGR.	ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES
<i>Romulus</i>	4.0	faibles.
<i>Bogota</i>	3.5	nuls.
<i>Diabirus</i>	3.5	faibles.
<i>Perroquet</i>	3.3	nuls.
<i>Kinley</i>	3.2	forts.
<i>Cordillero</i>	3.1	nuls.
<i>Bogota</i>	3.0	nuls.
<i>Dayton</i>	2.9	nuls.
<i>Québec</i>	2.7	nuls.
<i>Quito</i>	2.6	nuls.
<i>Cordillero</i>	2.5	nuls.
<i>Cayenne</i>	2.4	assez forts.
<i>Vancouvera</i>	2.1	assez forts.
<i>Jamaïco</i>	2.0	assez torts.

d'après les faits qu'on vient de voir, que, s'il n'y a pas d'anaphylaxie, c'est à cause de l'immunité, dont on ne peut jamais prévoir exactement l'extension et le degré.

Tantôt l'anaphylaxie masque l'immunité; tantôt l'immunité masque l'anaphylaxie, et on ne peut savoir d'avance si c'est l'un ou l'autre des phénomènes qui va l'emporter.

Au contraire, avec la congestine des actinies, il n'y a pas ou presque pas d'immunité, de sorte que l'anaphylaxie apparaît constamment à la seconde injection.

§ II. — Crépitrine noire et crépitrine rouge.

Ayant eu à ma disposition, grâce à la complaisance de mes amis du Brésil : A. DA COSTA, J. NOGUÉIRA et FR. NICOL, une assez grande quantité du suc de *Hura crepitans*, j'ai pu opérer avec de plus grandes quantités de substance. Je n'avais eu primitivement que 750 grammes de latex.

Tout d'abord, j'ai pu en séparer l'huile très caustique, qui donne au suc de l'assaku ses propriétés irritantes. Le liquide alcoolique évaporé a laissé un résidu huileux, une huile d'un jaune foncé, soluble dans l'alcool et dans le chloroforme, et insoluble dans l'eau. Cette huile est très dangereuse à manier, car elle est volatile et ses vapeurs produisent une conjonctivite extrêmement douloureuse. Mon garçon de laboratoire et moi, nous en avons été assez malades pendant 48 heures, avec insomnie, douleurs intenses, céphalée et état presque fébrile.

Je n'en ai fait l'étude, ni physiologique, ni chimique. Il me paraît que cette substance est assez analogue à l'huile de croton et c'est probablement à elle, plus qu'à la toxine, que le suc d'assaku doit ses propriétés caustiques, qui le font tant redouter des naturels du pays.

Le précipité alcoolique (par cinq volumes d'alcool) est très abondant. Après que l'alcool a été décanté, on peut le redissoudre dans l'eau. Une grande partie se redissout; il reste quelques albuminoïdes insolubles: on filtre et le liquide est précipité de nouveau par 5 volumes d'alcool à 95°.

Ce précipité, mis sur un filtre, noircit à l'air lorsqu'il perd son alcool: il contient une oxydase énergique.

Par des précipitations fractionnées, on arrive à le séparer en deux parties qui diffèrent par leur différente solubilité dans l'alcool: l'un est soluble dans 50 0/0 d'alcool; l'autre y est insoluble.

La crépitine soluble dans 50 0/0 d'alcool se redissout facilement dans l'eau. Je l'appelle *crépitine rouge*.

La crépitine insoluble dans 50 0/0 est encore soluble dans 25 0/0 d'alcool. Je l'appelle *crépitine noire*.

La séparation de ces deux substances est très délicate, et on en perd une grande partie dans les manipulations que cette séparation nécessite.

Je compte, avec les échantillons nouveaux que je viens de recevoir, faire une séparation plus complète. En tous cas, les expériences dont je vais donner la relation, ont été faites avec ces deux crépitines nettement distinctes: crépitine noire, insoluble dans 50 0/0 d'alcool; crépitine rouge, soluble entièrement dans 50 0/0 d'alcool; toutes deux insolubles dans 75 0/0 d'alcool.

Il va de soi que l'ancienne crépitine, celle qui a fait l'objet du mémoire précédent, était de la crépitine mixte.

La crépitine rouge est beaucoup moins toxique que la crépitine mixte.

Les expériences résumées dans le tableau suivant prouvent que la dose toxique de crépitine rouge est voisine de 0,015 par kilog. (La chienne *Pacifica*, morte en deux jours après la dose de 0,014, avait reçu en même temps injection du tissu cérébral.)

Voici les chiffres qui indiquent sa toxicité:

CRÉPITINE ROUGE (Chiens.)

NUMÉROS	NOMS	DOSE DE CRÉPITINE en milligrammes, par kilogr.	SURVIE en jours.
129	<i>Louverture</i>	50.	8
130	<i>Érie</i>	42.	6
131	<i>Taiti</i>	41.	2
132	<i>Toussaint</i>	40.	17
133	<i>Mufti</i>	39.	9
134	<i>Martinique</i>	37.	8
135	<i>Port-au-Prince</i>	35.	6
136	<i>Toboso</i>	27.	10
137	<i>Maine</i>	24.	12
138	<i>Amerigo</i>	22.	survit
139	<i>Hondura</i>	20.	35
140	<i>Alcala</i>	20.	10
141	<i>Boulogna</i>	20.	3
142	<i>Louisiane</i>	19.	survit
143	<i>Labrador</i>	17.	14
144	<i>Australia</i>	15.	survit
145	<i>Guadeloupe</i>	15.	10
146	<i>Guadalquivir</i>	15.	survit
147	<i>Morena</i>	15.	survit
148	<i>Pacifica</i>	14.	2
149	<i>Diemen</i>	8,5	survit
150	<i>Bas de-Cuir</i>	5.	survit
151	<i>Georgia</i>	5.	survit
152	<i>Borneo</i>	2.	survit
153	<i>Honolulu</i>	0,5	survit

A cette liste, j'ajouterai quelques autres expériences assez instructives.

D'abord, le sérum des chiens immunisés exerce une action autitoxique qui diminue la toxicité de la crépitine rouge. Ainsi le chien *Belem* (n° 154), reçoit 0^{gr},040 de crépitine rouge, soit une dose extrêmement forte, et toujours mortelle, mélangée au sérum d'*Amerigo*, et survit. Le chien *Roscoff* (n° 155) reçoit 0,0215 mélangée au sérum de *Pizarre* (n° 155 bis), également immunisé, et survit.

Si l'on chauffe modérément, à 40° pendant une heure ou deux, avec addition de carbonate de soude à 0,5 0/0, la solution de crépitine, on la rend plus toxique. Ainsi, *Salem* (n° 156), reçoit 0^{gr},011 de crépitine rouge, en solution alcaline, et meurt au 23^e jour. *Carcassone* (n° 157) reçoit 0,011 de crépitine rouge chauffée à 40° et meurt le 10^e jour. Tout se passe comme si la toxine n'existait pas en tant que toxine active, mais en tant que protoxine, capable de se transformer en toxine par l'action de la chaleur ou de l'alcali.

Et en effet, en maintenant dans la glace une solution de crépitine dès qu'elle est faite, on atténue ses propriétés et on la rend beaucoup moins active. *Atala* (n° 158) a reçu 0^{gr},0285 et a survécu. Il est intéressant de rapprocher le cas d'*Atala* du cas de *Carcassone*. La toxine chauffée à 40° a tué *Carcassone* à la dose de 0^{gr},011. Refroidie à 0°, cette même toxine n'a pas tué *Atala* à la dose de 0^{gr},0285. On verra plus loin qu'avec la congestine j'ai obtenu plus nettement encore les transformations de protoxine en toxine.

J'ai essayé sur les cobayes la toxicité de la crépitine rouge (en injection sous-cutanée ou intraveineuse) et j'ai constaté que la dose toxique est très exactement le double de la dose toxique chez le chien.

CRÉPITINE ROUGE (Cobayes.)

NUMÉROS	DOSE EN MILLIGR. par kilos.	DURÉE de la survie (en jours).
41	73	5
88	66	7
58	85	5
61	57	6
81	50	17
10	45	9
45	44	3
79	42	10
53	40	27
47	37	14
86	36	15
48	30	12
29	29	survit.
40	23	survit.
75	18	survit.
91	13	survit.
78	11	survit.
24	7	survit.

CRÉPITINE ROUGE (Lapins.)

NUMÉROS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	DURÉE de la survie (en jours).
29	74	12
47	67	11
13	65	survit.
71	59	7
47	54	survit.
56	50	survit.
73	48	19
31	48	16
87	45	survit.
62	45	11
84	44	11
7	41	survit.
83	36	survit.
98	33	survit.
60	25	survit (m. au 52 ^e j.)
63	23	20
92	22	survit.
24	22	survit.
62	12	survit.
1	8	survit.

Sur les lapins les chiffres sont moins réguliers (injection toujours intra-veineuse).

Ainsi, malgré quelques irrégularités, la dose limite est, en milligrammes par kil. pour injections intraveineuses.

Cobayes.....	30
Lapins.....	45
Chiens.....	15

Autrement dit, très exactement, dans les rapports de 1, 2, 3.

La crépitine noire est beaucoup plus toxique que la crépitine rouge..

Voici d'abord les chiffres relatifs aux chiens.

CRÉPITINE NOIRE (Chiens.)

NUMÉROS	NOMS	DOSE en milligr. par kil.	DURÉE de la survie (en jours).
159	<i>Diaz</i>	64.	3
160	<i>Tarascon</i>	50.	1
161	<i>Colon</i>	33.	0.5
162	<i>Antilla</i>	28.	7
163	<i>Rodriguez</i>	28.	9
164	<i>Culebro</i>	27.	6
165	<i>Sosie</i>	25.	3
166	<i>Othello</i>	18.	4
167	<i>Guzman</i>	8.3	survit
168	<i>Atochio</i>	7.2	1
169	<i>Natchez</i>	5.6	10
170	<i>Gonzalve</i>	5.5	13
171	<i>Pacheco</i>	5.3	14
172	<i>Palebras</i>	5.0	14
173	<i>Gonzales</i>	5.0	3
174	<i>Azteque</i>	3.8	10
175	<i>Geras</i>	3.2	9
176	<i>Concepcion</i>	3.1	survit
177	<i>Inès</i>	3.0	survit
178	<i>Almanzora</i>	2.7	15
179	<i>Melbourne</i>	2.3	19
180	<i>Grenadio</i>	2.2	survit
181	<i>Sidney</i>	2.0	3
182	<i>Assompcion</i>	1.3	16
183	<i>Granada</i>	1.1	12
184	<i>Castillo</i>	1.1	9
185	<i>Pueblo</i>	0.7	survit
186	<i>Boléro</i>	0.65	survit

Il faut évidemment mettre à part le chien *Guzman*, qui a présenté une immunité naturelle assez paradoxale, plus ou moins comparable à celle du chien *Kakatoa*.

Si le chien *Grenadio* (n° 180) a survécu, c'est qu'il avait reçu en même temps l'extrait cérébral du chien *Belem*, déjà mentionné plus haut, et qui était sans doute très fortement immunisé, puisqu'il avait résisté à 0^{gr},040 de crépitine rouge.

En définitive, la dose toxique de crépitine noire paraît être très voisine de 0^{gr},001, c'est-à-dire se rapprocher de la dose toxique de la crépitine mixte.

Je n'ai pas fait d'injections de crépitine noire à des cobayes, mais seulement à des lapins, et j'ai obtenu les chiffres suivants :

CRÉPITINE NOIRE (Lapins.)

NUMÉROS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	DURÉE de la survie
41	67.	2.
51	53.	0.5
52	38.	2.
100	34.	11.
26	26.	5.
5	17.	15.
39	16.	7.
15	15.	6.
2	12.	8.
57	10.	23.
25	10.	survit.
27	9.4	25.
44	8.0	3.
20	7.7	8.
19	7.0	survit.
94	7.0	40.
23	6.5	12.
51	6.0	24.
90	5.9	13.
76	5.1	34.
12	4.4	survit.
33	4.3	survit.
55	3.9	survit.
95	2.9	survit.

Les lapins ont donc une dose limite de 0^{gr},0045 par kil., c'est-à-dire qu'ils sont 4 fois moins sensibles que les chiens.

En tout cas, ce qui ressort nettement de ces expériences, c'est que la crépitine rouge est 15 fois moins toxique que la crépitine noire.

Il me paraît peu rationnel d'admettre que la crépitine rouge doive sa toxicité à des traces de crépitine noire; car autant il est difficile d'avoir de la crépitine noire ne contenant pas traces de crépitine rouge, autant il est facile, par une solution alcoolique à 50 ou même à 62 0/0 d'alcool, d'éliminer complètement les albumines qui, comme la crépitine noire, précipitent par plus de 25 0/0 d'alcool. Le filtrat est parfaitement pur, et cette solution alcoolique peut être indéfiniment gardée.

D'ailleurs, vu l'importance de cette séparation rigoureuse, je cherche en ce moment à obtenir des séparations plus complètes encore des crépitines différemment solubles, suivant les proportions d'alcool.

Les crépitines noire et rouge ont été aussi étudiées au point de vue de la puissance anaphylactique. Pour faciliter le langage, nous appellerons *injection préparante*, la première injection anaphylactisante, et *injection déchainante*, la seconde injection qui provoque les accidents d'anaphylaxie.

La crépitine rouge a un pouvoir déchainant notable. (La limite toxique, chez le chien, est de 0^{gr},015.)

CRÉPITINE ROUGE. INJECTION DÉCHAINANTE

NOMS	DOSE en milligr. par kil.	ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES
<i>Philadelphie</i> ...	25.	Assez forts. Survit.
<i>Michigan</i>	20.	Très forts. Survit.
<i>Bolivar</i>	9.	Moyens. Prurit intense. Survit.
<i>Mexico</i>	6.2	Très forts. 4 jours.
<i>Nicaragua</i>	5.0	Très forts. Survit.
<i>Louisiane</i>	5.	Survit.
<i>Raminto</i>	4.5	Très faible. Survit.
<i>Concepcion</i>	3.0	Faible. Survit.
<i>Texas</i>	1.0	Survit.

La crépitine noire a, elle aussi, un pouvoir déchainant très fort. (La dose toxique de crépitine noire est, chez le chien, de 0^{gr},001.)

CRÉPITINE NOIRE. INJECTION DÉCHAINANTE

NOMS	DOSE en milligr. par kil.	ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES
<i>Ténériffa</i>	82.	Très forts. Mort en 23%.
<i>Crépita</i>	66.	Très forts. Mort en 3 h.
<i>Hudson</i>	41.	Nuls. Survit.
<i>Lille</i>	40.	Faibles. Survit.
<i>Kinley</i>	3.2	Assez forts. Survit.
<i>Baltimore</i>	3.1	Nuls. 19 jours.
<i>Dayton</i>	2.9	Nuls. Survit.
<i>Vera Cruz</i>	2.8	Nuls. Mort en 8 jours.
<i>Québec</i>	2.7	Nuls. Survit.
<i>York</i>	2.1	Faibles. Prurit. Mort en 24 h.
<i>Vancouvera</i>	2.1	Moyens.
<i>Louisiane</i>	2.0	Moyens. Survit.
<i>Honolulu</i>	2.0	Moyens. Survit.
<i>Bolivar</i>	1.7	Extrêmement forts.
<i>Paolo</i>	1.4	Mort immédiate.
<i>Roscoff</i>	1.2	Forts. Survit.
<i>Bornéa</i>	0.4	Très forts. Mort en 1 jour.

Mais il faut interpréter ces faits; car les conditions, chez ces différents chiens, étaient très différentes.

Chez *Ténériffa* et *Crépita* on ne peut pas dire qu'il s'agisse

de vraie anaphylaxie, car la dose injectée a été tellement forte qu'on ne peut rien conclure, sinon que l'animal n'était pas immunisé contre une aussi forte dose.

Hudson, Lille, Kinley, Dayton, Québec. ont survécu à des doses mortelles pour des chiens normaux, et ils n'ont pas présenté de phénomènes anaphylactiques. Ils étaient donc bien immunisés sans être anaphylactisés, alors que les chiens injectés à la crépitine rouge étaient immunisés, mais en même temps anaphylactisés (*Michigan et Philadelphie.*)

On ne peut cependant pas conclure que la crépitine noire n'ait pas de pouvoir déchainant. Au contraire, son pouvoir déchainant est manifeste dans quelques cas, par exemple pour *Bornéa* et *Paolo*.

Bornéa a reçu le 14 avril 0^{gr},002 de crépitine rouge, ce qui est une dose absolument inoffensive. Le 20 mai, soit 37 jours après, elle reçoit de crépitine noire la dose extrêmement faible de 0^{gr},0004. Immédiatement, elle est prise de vomissement, diarrhée intense, puis coma, avec respiration dyspnéique, insensibilité complète, mort imminente. Elle se relève pourtant, mais meurt dans la nuit, près de 6 heures après l'injection. A noter que l'injection préparante était crépitine rouge, et l'injection déchainante crépitine noire.

Paolo a reçu le 15 janvier 0^{gr},01 d'une crépitine (mixte impure) dont la toxicité est faible. Le 28 février, soit au 44^e jour, il reçoit en injection déchainante 0^{gr},0014 de crépitine noire, additionnée de carbonate de soude. Alors, aussitôt, phénomènes extrêmement graves. Vomissements. État asphyxique. Cécité psychique et insensibilité. Il meurt 35 minutes après l'injection, ce qui est absolument exceptionnel.

Dayton, qui avait reçu le 14 janvier 0^{gr},007 de la même crépitine mixte, en injection préparante, c'est-à-dire presque exactement la même dose que *Paolo*, et en même temps que lui, reçoit le 28 février 0^{gr},0029 de la même solution de crépitine noire que *Dayton*, mais sans addition de carbonate de soude. Il n'a pas d'anaphylaxie et survit, sans avoir jamais présenté le moindre trouble. (Il est encore vivant aujourd'hui, 15 juin.)

Ces trois expériences prouvent donc : 1^o que la crépitine noire a un pouvoir déchainant, même si l'injection première a été de la crépitine rouge ;

2° Que la crépitine noire est probablement une protoxine, puisque son pouvoir toxique augmente énormément par l'action du carbonate de soude.

L'expérience faite avec *Roscoff* confirme nettement le pouvoir déchainant de la crépitine noire, même quand l'injection préparante a été faite avec la crépitine rouge. *Roscoff* a reçu le 23 février 0^{gr},0215 de crépitine rouge et a survécu (car la toxine était mélangée avec du sérum d'un chien immunisé). Le 19 avril, soit au 54^e jour, on lui injecte 0,0012 de crépitine noire. Il est tout de suite très malade, avec titubation, vomissements, diarrhée, inertie absolue, respiration mauvaise, état assez grave qui dure 35 minutes.

Cet antagonisme est d'autant plus intéressant, que de crépitine rouge à crépitine rouge l'anaphylaxie est faible. Ainsi, *Louisiane*, qui a reçu le 11 février la dose très forte de 0^{gr},019 de crépitine rouge, reçoit le 21 avril, c'est-à-dire au 68^e jour, 0,005 de cette même crépitine rouge, et n'a rien. Mais, le 20 mai, c'est-à-dire au 29^e jour, après avoir reçu 0^{gr},002 de crépitine noire, elle a une anaphylaxie des plus nettes (diarrhée intense, état cataleptoïde et spasmodique des muscles, respiration difficile, anhélanter.) La crépitine rouge n'a pas pu produire en injection déchainante l'anaphylaxie qu'a provoquée intensivement la crépitine noire; encore que la première injection ait été de la crépitine rouge.

Donc, il y a interéchange d'action entre la crépitine rouge préparante et la crépitine noire déchainante.

Mais la réciproque n'est peut-être pas vraie; encore que, par suite du petit nombre d'animaux ayant survécu à l'injection première de crépitine noire, il soit difficile de conclure en toute rigueur.

Philadelphie, *Bolivar* et *Texas* ont reçu de la crépitine rouge en injection déchainante; après avoir reçu de la crépitine noire en injection préparante. Mais ils avaient antérieurement été injectés avec de la crépitine mixte, et la crépitine noire n'a été qu'en seconde injection, la crépitine rouge en troisième, ce qui rend la conclusion difficile.

Je ne peux guère citer que la chienne *Conception* qui avait résisté le 28 février à la forte dose de 0,0031 de crépitine noire. Le 21 avril, soit au 53^e jour, elle reçoit 0,0031 de crépitine

rouge, et est à peine malade (vomissements et un peu de diarrhée).

Nous retrouverons plus marqué encore ce même antagonisme entre les deux variétés d'une même toxine pour la congestine jaune et la congestine noire.

J'ai fait aussi quelques expériences d'anaphylaxie sur les cobayes et les lapins, mais les résultats ont été assez médiocres, suffisants pour dire qu'il y a anaphylaxie et immunité. Mais l'anaphylaxie comme l'immunité ne sont pas très marquées, et les expériences fournissent beaucoup moins de détails que les expériences faites sur les chiens.

§ III. — *De l'anaphylaxie in vitro avec la crépitine.*

Les expériences d'anaphylaxie *in vitro* que j'avais indiquées dans mon précédent mémoire ont été répétées avec succès par divers auteurs : FRIEDEMANN, DÖRR et RUSS, BRIOT, etc., de sorte que ce fait, si important pour la théorie de l'anaphylaxie, n'est plus contestable. Il a d'ailleurs été fortifié par la découverte importante de FRIEDBERGER, que la précipitine obtenue par le mélange de l'antigène avec le sérum de l'animal immunisé, est par elle-même toxique, et provoque chez un animal neuf les syndrômes de l'anaphylaxie.

Pourtant il me paraît utile de rapporter quelques-unes de mes nouvelles expériences sur l'anaphylaxie *in vitro*; car l'expérimentation sur le chien, avec un produit relativement homogène, comme la crépitine, fournit de plus amples renseignements que l'expérimentation avec un sérum étranger chez des lapins et des cobayes.

I. Le chien *Amérigo* reçoit le 4 février 0^{gr},022 de crépitine rouge. Le 11 mars, au 35^e jour, il est sacrifié, et le mélange de son sérum (192 c. c.) avec 0^{gr},26 de crépitine rouge, est injecté à *Belem*, de 6^k,5 (ce qui fait 0^{gr},04 par kil.)

Pendant l'injection même, il y a une hémorrhagie intestinale, et il s'écoule par le rectum du sang presque pur. *Belem* est assez malade, vomit du sang assez abondamment, a de la diarrhée sanguinolente, se couche, très abruti, et ayant grande peine à se relever. Pourtant, il survit.

L'expérience est doublement intéressante, car *Belem* a sur-

vécu, quoique la dose de 0,04 de crépitine rouge soit mortelle pour un chien neuf; le sérum était donc immunisant. En même temps, il contenait de l'apotoxine, c'est-à-dire la combinaison de la toxine antigène avec la toxogénine du sérum d'*Amérigo*. En effet, jamais, chez un chien neuf, l'injection de crépitine n'est accompagnée d'hémorrhagie intestinale, ou même de phénomènes toxiques quelconques.

Par comparaison, le même jour, on mélange 0^{gr},02 (par kil.) de crépitine avec l'extrait hépatique d'*Amerigo* et on injecte le mélange à *Alcala*. *Alcala* ne présente aucun symptôme immédiat (donc le foie ne contenait pas de toxogénine), mais elle n'est pas immunisée non plus, et meurt le 10^e jour. (Donc le foie ne contenait pas plus de toxogénine que d'antitoxine.)

II. La chienne *Atala* a reçu le 11 février 0^{gr},0285 de crépitine rouge, sans être malade aucunement. Le 21 mars, au 38^e jour, elle est sacrifiée par hémorrhagie, et on mélange 90 c. c. de son sérum avec 0^{gr},145 de crépitine rouge, pour l'injecter à *Louverture* (ce qui fait 0^{gr},05 par kil. de crépitine rouge). Après injection de 20 c. c., *Louverture* vomit avec intensité; il a de la diarrhée, un léger ténésme rectal et un peu de titubation. Après que toute la crépitine, mélangée au sérum d'*Atala*, a été injectée, *Louverture* est pris de démangeaisons frénétiques, aussi nettes qu'après l'injection de malassine. Pendant 5 minutes, il se frotte énergiquement le museau sur le sol, se roule par terre, se gratte de tous côtés, ne sait où aller, tant le prurit est fort. Il est impossible de trouver un exemple plus net de prurit. Or nous savons que le prurit est un des phénomènes essentiels de l'anaphylaxie, et que jamais la crépitine ne provoque rien d'analogue sur un animal neuf.

Louverture avait reçu une dose très forte, trop forte sans doute pour qu'on ait pu ainsi l'immuniser. Il meurt le 8^e jour.

Le foie d'*Atala* (extrait soluble, hépatique, bien filtré) est injecté à un autre chien, *Toussaint*, avec 0^{gr},04 (par kil.) de crépitine. *Toussaint* a quelques légères et fugaces démangeaisons, et ne paraît d'ailleurs pas incommodé. Il meurt le 17^e jour.

III. *Guzman* a reçu sans mourir, le 14 février, la dose extrêmement forte de 0^{gr},0083 de crépitine noire. Il est sacrifié par hémorrhagie le 28 mars, soit au 42^e jour. Le 28 mars, on mélange 110 c. c. de sérum avec 0^{gr},05 de crépitine noire, et on injecte

la totalité à *Pacheco* (soit 0,0053 par kil.), de 5 h. 15 à 5 h. 23. A 5 h. 25, *Pacheco*, détaché, a un peu de titubation, de la diarrhée. Puis il tombe sur le flanc, ne pouvant plus marcher. La respiration est dyspnéique. Pourtant, il conserve son intelligence, il n'a pas de cécité psychique; mais il est dans un état d'inertie absolue, avec incapacité motrice. Il ne peut se relever et marcher tout seul qu'à 5 h. 45. Il meurt le 14^e jour.

IV. *Nicaragua*, assez jeune chien bull, a reçu le 5 novembre 0,0013 de crépitine mixte, et le 22 février, la dose très faible de 0,005 de crépitine rouge, ce qui détermine une très forte anaphylaxie. 50 jours après la seconde injection, le 13 avril, il est sacrifié; on injecte à *Taïti* 135 c. c. de son sérum, mélangé à 0^{gr},33 de crépitine jaune. Dès le début de l'injection (0,006 par kil.) *Taïti* est assez malade. Il peut se tenir debout, mais il est hébété, presque insensible, ne répondant pas à des excitations même fortes. On achève l'injection des 0^{gr},032 (par kil.) et les phénomènes, loin de s'aggraver, paraissent plutôt diminuer. Il meurt au 2^e jour.

V. *Belem* est sacrifié le 22 avril par hémorrhagie. On prend 62 c. c. de son sérum qu'on injecte à *Gonzalès* avec 0^{gr},005 par kil. de crépitine noire. L'injection est finie à 3 h. 38. A 3 h. 45, *Gonzalès* a une anaphylaxie pruritique légère, mais aussi nette qu'on peut le désirer. Il se frotte le museau avec les deux pattes. C'était un chien vif et allègre, qui pendant une demi-heure devient triste, fatigué, hébété.

VI. *Dièmen* a reçu le 11 avril 0^{gr},0085 de crépitine rouge; et *Australia* le 15 avril, 0,015 de cette même crépitine rouge. Les deux chiens sont sacrifiés le 24 mai, soit aux 44^e et 41^e jour, par hémorrhagie. On mélange les deux sérums, qui sont injectés à *Melbourne*, avec 0,0023 (par kil.) de crépitine noire (160 c. c. de sérum). L'injection est finie à 3 h. 28. D'abord, *Melbourne* n'est pas malade; mais à 3 h. 48 apparaissent les démangeaisons, nettes et modérées. A 3 h. 56, elles s'exacerbent, et enfin à 4 h. 2, elles deviennent frénétiques, d'une intensité extrême.

VII. *Bas de Cuir* a reçu le 7 février 0,005 de crépitine rouge. Le 15 avril, c'est-à-dire au 69^e jour, il est sacrifié par hémorrhagie, et 230 c. c. de son sérum sont injectés à *Dièmen*, mélangés à 0^{gr},0085 (par kil.) de crépitine rouge. *Dièmen* a une attaque légère, mais nette, de démangeaisons.

VIII. *Michigan, Québec et Georgia* sont sacrifiés par hémorrhagie. Ils avaient reçu de la crépitine mixte et de la crépitine rouge à plusieurs reprises, 40 jours auparavant. Leur sérum (mélangé) est mélangé à 0^{gr},8 de crépitine jaune et injecté, à la dose de 190 c. c. à *Cypris* de 17^k,4 (soit 11 c. c. 2 de sérum par kil. et 0,048 par kil. de crépitine). Dès le début de l'injection, il y a hémorrhagie intestinale chez *Cypris*. Du sang presque pur s'écoule par le rectum. D'abord, il y a un prurit intense, puis, au bout de vingt minutes, l'état s'aggrave. Grande faiblesse. Stupeur. Respiration mauvaise. *Cypris* se couche, peut marcher encore, mais est tout à fait épuisée. L'extrême stupeur alterne avec des démangeaisons féroces. *Cypris* meurt le lendemain même de l'injection.

Ces huit expériences, qu'il faut ajouter aux expériences indiquées dans le précédent mémoire (*Mattagrossa, Romulus*, etc.) établissent donc d'une manière indiscutable le phénomène que j'ai, le premier, appelé *anaphylaxie in vitro*. C'est, à ce qu'il me semble, un fait de capitale importance, et je ne crois pas qu'on puisse l'expliquer autrement que par l'hypothèse proposée dès mon mémoire de 1907, à savoir qu'il y a une *toxogénine* dans le sang des animaux anaphylactisés, et que cette toxogénine, réagissant sur la toxine antigène, donne une combinaison toxique, l'*apotoxine*, poison anaphylactique, à effets particuliers, disparaissant très vite du sang, produisant à dose faible prurit; à dose moyenne diarrhée, vomissements et hébétude; à dose forte, dyspnée, état, comateux, et hémorrhagies gastro-intestinales (1).

Peut-être, d'ailleurs, cette anaphylaxie *in vitro* ne doit-elle pas être généralisée outre mesure, car avec la congestine des actinies je n'ai jamais rien pu voir d'analogue.

§ IV. — De l'anaphylaxie cérébrale *in vitro*.

J'ai supposé que la toxogénine des chiens anaphylactisés n'existait pas seulement dans le sérum du sang, mais encore dans le tissu cérébral, et l'expérience a confirmé mes prévisions.

Voici comment l'expérience a été faite :

Le cerveau d'un chien, sacrifié par hémorrhagie, est traversé

(1) M. WOLFF EISSNER (*Handbuch der Serumtherapie*, 1910) appelle cette théorie de l'apotoxine une théorie embrouillée (*verwirrende*). C'est sans doute parce qu'il n'a pas pu la comprendre, ce qui ne dépend pas tout à fait de moi.

par un courant d'eau injectée par la carotide, de manière à être débarrassé de tout le sang qu'il contient. Alors le cerveau est broyé avec du sable en pulpe très fine, et agité avec 3 fois son poids d'eau salée à 7 0/00 de NaCl. L'extrait est alors centrifugé, et le liquide opalescent qui surnage est filtré à quatre reprises sur du papier filtre très serré (trois filtres superposés à chaque filtration). Le liquide reste toujours un peu opalescent, mais il finit par passer sur ces triples filtres aussi rapidement que de l'eau. La quantité de matière organique a été de 0,46 0/0 dans un dosage.

Ce liquide peut être injecté sans inconvénient à des chiens, même à dose très forte.

Si l'on évalue en centimètres cubes la quantité de liquide cérébral injecté par kil. d'animal (et toujours l'extrait aqueux cérébral était fait par broyage du cerveau avec 3 fois son volume d'eau) on a pu, sans obtenir aucun autre symptôme que quelquefois une passagère anhélation et un peu de diarrhée, injecter les quantités suivantes : (en centimètres cubes) 10,6 — 10 — 10 — 9 — 6,2 — 4,5 — 4,4 — 4 — 3,6 — 3 — 2 — 0,5, ce qui suffit pour établir la relative immunité de cette injection d'extrait aqueux cérébral.

Au contraire, si l'extrait aqueux du cerveau d'un animal anaphylactisé est mélangé avec l'antigène qui a anaphylactisé, il se fait immédiatement une réaction violente, et une anaphylaxie parfois très intense se déchaîne.

En voici quelques exemples typiques :

I. *Amérigo* a reçu il y a 35 jours 0^{gr},024 de crépitine rouge. On injecte 60 c. c. de son extrait cérébral (soit 5 c. c. 9 par kil. à *Honduras* avec 0,001 (par kil.) de crépitine rouge. Aussitôt après l'injection apparaissent des phénomènes extrêmement graves, perte de connaissance, yeux hagards, iris dilaté, cécité psychique, respiration asphyxique. Puis se manifestent nystagmus, cécité psychique, diarrhée avec sang dans les fèces, titubation marquée, etc.

Néanmoins, *Honduras* survit à cette anaphylaxie intense : il ne meurt que le 35^e jour.

II. *Nicaragua*, 50 jours après l'injection déchainante de crépitine mixte, est sacrifié par hémorrhagie. L'extrait cérébral est injecté à la dose très faible de 0 c. c. 5 par kil. à *Honolulu* avec 0,0005 par kil. de crépitine rouge. Dès que l'injection de cette minuscule dose est terminée, apparaissent des phénomènes graves,

troubles de la locomotion, ataxie, paraplégie, nystagmus et diarrhée. Pour s'assurer que l'extrait cérébral n'est pas par lui-même toxique, on injecte 1 c. c. (par kil.) de ce liquide, non additionné de crépitine, à *Sandwich* ; ce qui provoque quelques troubles respiratoires qui ne durent que 5 ou 6 secondes, puis tout disparaît, alors que *Honolulu* reste pendant une heure extrêmement malade. *Honolulu* a survécu.

Le lendemain, ce même liquide est injecté à *Bornéa* (1 c. c. par kil.) sans addition de crépitine, et cela sans aucun effet. Même après addition de 0,002 par kil. de crépitine, on n'observe plus le lendemain aucun effet sur *Bornéa* (comme si la toxogénine avait disparu?)

III. *Belem*, au 42^e jour, après injection préparante de 0^{gr},040 de crépitine rouge, est sacrifié par hémorrhagie. On injecte 20 c. c. de son extrait cérébral à *Arroyo* (de 12 kil.) (soit 1 c. c. 6 par kil.), avec la même quantité de 0,00033 par kil. de crépitine noire. Injection finie à 4 h. 5'. A la fin de l'injection, il a de la diarrhée, et est très faible. A 4 h. 10, l'état s'aggrave, la respiration se suspend, le cœur bat avec une force extrême, assez pour soulever violemment le thorax et ébranler la tête. Puis la respiration revient et reprend son rythme normal. Alors l'animal est dans un grand état d'épuisement. Il ne peut se tenir debout. Un liquide séreux, diarrhéique, mélangé à du sang, s'écoule par le rectum. Mais la respiration devient de plus en plus mauvaise, et finit par s'arrêter. Il meurt par arrêt respiratoire, le cœur continuant à battre, à 4 h. 23'.

Mais j'ai poussé l'expérience plus loin. De l'extrait cérébral de *Belem*, 20 c. c. seulement avaient été injectés à *Arroyo*. Alors 80 c. c. de ce même liquide sont précipités par l'alcool ; le précipité, abondant, est séché sur papier, puis redissous dans l'eau et injecté avec 0,0022 par kil. de crépitine noire à *Grenadio* (de 7^k,2). Injection terminée à 1 h. 30. L'animal, détaché, est observé avec soin. Il a quelques troubles (légers), de la démarche et une titubation à peine perceptible. Puis apparaît (1 h. 40) un prurit faible d'abord, mais qui devient de plus en plus net. Il se gratte partout, se frotte le museau contre terre avec ses deux pattes, renifle de tous côtés, se gratte le flanc avec la patte, se mordille la queue, se lèche les pattes, se frotte les oreilles avec frénésie. Cet état de prurit ne dure guère et paraît terminé à 1 h. 55.

L'expérience est donc très nette, et semble prouver que l'élément toxique, toxogénine, dissoute dans l'extrait cérébral, a été précipitée par l'alcool, a pu se redissoudre dans l'eau.

Je dois ajouter que ce même précipité alcoolique du liquide cérébral de *Belem*, additionné de crépitine, a été aussi injecté à *Chrysale* le même jour, et que *Chrysale* n'a eu que des symptômes peu accusés, un peu d'hébétude et d'essoufflement. (Il est vrai que *Chrysale* n'était pas un chien neuf, mais qu'il avait reçu récemment de l'actino-congestine).

IV. *Québec, Michigan et Georgia* sont sacrifiés par hémorragie. On mélange l'extrait cérébral aqueux, bien filtré, de ces trois chiens, et on en injecte 45 c. c. (3 c. c. 8 par kil.) à *Mufti* avec 0^{gr},039 de crépitine rouge. L'injection est terminée à midi 28. D'abord, il n'y a aucun phénomène. A midi 48, *Mufti* commence à avoir quelques démangeaisons qui deviennent notablement plus fortes, sans être intenses. *Mufti* se gratte le museau avec ses pattes, se lèche, et se mordille les pattes. Mais il n'est nullement malade. A 1 h. 30, il essaye le coït avec *Sosia*, qui a reçu, à 1 h. 25, du même liquide cérébral, 4 c. c. 2 par kil., mélangés à la très forte dose de 0,026 de crépitine noire. *Sosia* est un peu hébétée et survit, ce qui n'est pas démonstratif, car la dose de 0,026 de crépitine noire est suffisante pour produire des troubles.

V. *Pizarra*, très jeune chienne de 3 mois, injectée le 26 décembre avec 0,003 de crépitine mixte, a survécu. Elle est sacrifiée le 23 février, soit au 59^e jour. Son extrait cérébral aqueux est injecté à la dose de 14 c. c. par kil. à *Boulogna* avec 0^{gr}, 020 de crépitine rouge par kil.

Boulogna est rapidement très malade. Elle tombe par terre, et ne peut se relever qu'à peine. Sa démarche est titubante, ataxique. Finalement, elle ne peut plus se relever. Insensibilité presque complète. État très grave. Elle meurt au 2^e jour, et on trouve du sang en abondance dans l'intestin et dans le foie.

VI. *Grenadio* a reçu le 23 avril 0,0022 de crépitine noire. Le 15 juin (au 55^e jour), il est sacrifié par hémorragie. L'extrait aqueux de son cerveau est centrifugé, et le liquide qui surnage est précipité par 4 volumes d'alcool. Ce précipité, desséché dans le vide et pulvérisé, est repris par l'eau. Le filtrat, limpide, est additionné de 0,003 (par kil.) de crépitine noire et injecté à *Makoko*. Sept à huit minutes après que l'injection est terminée,

apparaît un prurit extrêmement net. *Makoko* se frotte le museau avec les pattes, se lèche et se mordille partout, se frotte frénétiquement le museau contre un paillason, en se roulant dessus. Ce prurit très fort dure peu de temps. Au bout d'un quart d'heure, *Makoko* est revenu à l'état normal. Il n'a d'ailleurs eu, en fait de symptômes, que du prurit.

Ainsi, ces 6 expériences établissent formellement ce fait que la crépitine, mélangée au cerveau (et même au précipité alcoolique du cerveau) agit comme une substance toxique immédiatement offensive (apotoxine) et déchainant immédiatement des accidents anaphylactiques, aussi nettement que l'amygdaline mélangée à l'émulsine provoque les accidents toxiques de l'empoisonnement cyanhydrique.

L'expérience vient d'ailleurs d'être répétée d'une manière ingénieuse par BELIN (*Bull. de la Soc. de Biol.*, mai 1910) sur des cobayes.

Il est vrai que dans quelques cas les résultats ont été négatifs, mais en pareil cas les faits négatifs n'ont pas grande valeur. Tous ceux qui ont étudié les réactions humorales des animaux immunisés savent qu'on observe de nombreuses et formelles exceptions.

Voici quelques faits négatifs :

I. *Guadeloupe* reçoit 9 c. c. 4 (par kil.) du cerveau de *Vadius*, avec 0,015 de crépitine rouge. Nul effet : cependant il a peut-être quelques légères et fugaces démangeaisons.

II. *Port-au-Prince* reçoit 10 c. c. 6 (par kil.) du cerveau d'*Atala* avec 0,035 (par kil.) de crépitine rouge, et ne présente absolument aucun phénomène.

III. *Australia* reçoit 9 c. c. 2 par kil. du cerveau de *Bas-de-Cuir* avec 0,014 de crépitine rouge. Nul phénomène. (*Boréal* reçoit le même jour 4 c. c. 6 par kil. du même liquide cérébral non additionné de crépitine, et n'a aucun phénomène, sinon un peu de polypnée pendant l'injection).

IV. *Pépito* a reçu le précipité alcoolique cérébral d'un chien anaphylactisé (mélangé avec de la crépitine) et n'a eu aucun symptôme.

Voici d'ailleurs, résumé en un tableau, le résultat de ces expériences d'anaphylaxie cérébrale *in vitro*.

NOMS	DOSE d'extrait cérébral aqueux (1) c.c. par kil.	DOSE de crépitine mil. park.	EFFETS
<i>Honduras</i>	5.9	1.	Anaphylaxie intense.
<i>Honolulu</i>	0.5	0.5	Cécité psychique. Diarrhée sanglante.
<i>Bornéa</i> (2)	1.	2.	Anaphylaxie intense.
<i>Arroyo</i>	1.6	0.33	Nul phénomène.
<i>Mufl.</i>	3.8	4.9	Anaphylaxie intense. Mort rapide.
<i>Boulogne</i>	14.0	20.0	Démangeaisons modérées.
<i>Guadeloupe</i>	9.4	15.0	Anaphylaxie intense.
<i>Port-au-Prince</i>	10.6	35.0	Très légères démangeaisons.
<i>Australia</i>	9.2	14.0	Nuls effets.
<i>Makoko</i>		13.0	Nuls effets.
			Assez fort prurit.

Ajoutons à ces faits très nets quelques expériences faites avec la congestine des actinies, mélangée avec l'extrait cérébral de chiens anaphylactisés contre la congestine.

Je dois indiquer ici, pour y revenir plus tard, que la congestine noire et la congestine jaune sont mortelles, en 3 ou 4 jours, à la dose de 0^{gr},05 par kil. Les effets sont moins nets qu'avec la crépitine; car la congestine à forte dose, même lors de la première injection, produit des vomissements, de la diarrhée, et quelque hébétude, alors que la crépitine en injection première est absolument sans effet.

I. *Bridoisson* a reçu le 8 mars 0,05 de congestine noire. On le sacrifie le 20 avril, au 42^e jour. Son cerveau est injecté, mélangé avec 0,014 de congestine jaune à *Scapinette* (par kil.), ce qui est une très faible dose (11 c. c. 6 d'extrait cérébral par kil.) *Scapinette* vomit tout de suite; elle semble fatiguée et hébétée. Diarrhée sanglante, et vomissements sanglants.

A noter que cette dose de 0,014 de congestine jaune est très faible, et que cependant *Scapinette* a été longtemps malade des suites de cette injection. Le 11 juin (au 51^e jour), elle a des troubles ataxiques, une grande maigreur, etc. On la sacrifie.

II. *Béjard* a reçu le 5 mars 0,03 d'actino-congestine noire. Le 20 avril, au 45^e jour, il est sacrifié et l'extrait cérébral est injecté à *Hector* avec congestine jaune (par kil. 0,015 de congestine jaune et 6 c. c. d'extrait cérébral). On n'observe pas d'accidents, autres que des vomissements et un peu de diarrhée.

III. *Alcandre* a reçu le 12 janvier 0,045 de congestine noire.

(1) Cerveau broyé avec 3 fois son volume d'eau.

2) Expérience faite le lendemain.

Il est sacrifié par hémorrhagie le 21 février (au 40^e jour). L'extrait aqueux cérébral est injecté à *Lisette* (10 c. c. d'extrait cérébral par kil.) avec 0^{gr},025 de congestine jaune. Nul phénomène que vomissement et défécation.

Par comparaison, le même jour, on injecte *Sylvia* avec l'extrait aqueux de la rate d'*Alcandre* et 0,03 de congestine jaune : nul phénomène. *Mario* avec sérum d'*Alcandre* et 0,04 de congestine jaune : nul phénomène; *Grondard*, avec extrait hépatique d'*Alcandre*, et 0,0275 de congestine jaune : d'abord il n'y a aucun phénomène; mais, quelque temps après, *Grondard* est pris de démangeaisons très fortes, il se roule par terre et se frotte le museau contre le sol.

Cette expérience, qu'il faudra d'ailleurs répéter, semblerait prouver que la toxogénine de l'actino-congestine se localise plutôt dans le foie, tandis que celle de la crépitine se localise dans le cerveau.

IV. *Dorimène* et *Juana*, anaphylactisés à l'actino-congestine depuis 102 et 173 jours, sont sacrifiés le 24 mai. Leur extrait cérébral aqueux (mêlé) est mis au contact d'actino-congestine et injecté à *Torresina* (2 c. c. d'extrait cérébral et 0,026 de congestine jauné par kil.). Nul phénomène.

Le sérum de *Dorimène* et *Juana* est injecté, mêlé avec 0^{gr},025 par kil. de congestine jaune à *Zélandia* (27 c. c. 5 de sérum par kil.). Nul effet, sinon peut-être quelques démangeaisons faibles. On peut donc provisoirement dire que l'anaphylaxie *in vitro* (soit avec le sérum, soit avec l'extrait cérébral), qui réussit si bien avec la crépitine, réussit peu avec l'actino-congestine.

§ V. — Actino-congestines jaune et noire. Toxicité.

Le produit brut, que j'ai appelé actino-congestine, a pu être séparé en deux produits très différents, que j'appellerai pour simplifier : *congestine jaune* et *congestine noire*, l'une et l'autre solubles dans l'eau, mais différemment solubles dans l'alcool.

La congestine noire est insoluble dans des solutions contenant 25 0/0 d'alcool, et elle est précipitée de sa solution aqueuse par la quantité correspondante d'alcool.

La congestine jaune est entièrement soluble dans des solutions contenant 50 0/0 d'alcool, et elle n'est précipitée par l'alcool que si le titre alcoolique est de 75 0/0.

On peut alors, par des dissolutions et précipitations répétées

méthodiquement, avoir deux corps tout différents; l'un grisâtre, assez difficilement soluble dans l'eau (congestine noire), l'autre, d'un beau jaune ambré, présentant un dichroïsme éclatant et se dissolvant dans l'eau avec la plus grande facilité.

Assurément l'étude chimique de ces deux corps très différents devrait être méthodiquement entreprise, mais je ne me suis occupé jusqu'à présent que de leurs propriétés biologiques.

Quoique la séparation soit laborieuse, elle est plus facile cependant que la séparation de la crépitine rouge et de la crépitine noire.

CONGESTINE JAUNE

NOMS	DOSE en milligr. par kil.	SURVIE EN JOURS
<i>Mai</i>	75.	1.
<i>Horace</i>	60.	4.0
<i>Flipote</i>	55.	33.
<i>Gorgibus</i>	50.	survit.
<i>Almeida</i>	45.	31.
<i>Martine</i>	45.	survit.
<i>Dorimeda</i>	41.	—
<i>Adrasta</i>	40.	—
<i>Cléante</i>	40.	—
<i>Belise</i>	40.	—
<i>Marfurius</i>	40.	—
<i>Corielle</i>	40.	—
<i>Arnolfe</i>	40.	—
<i>Pourceaugnac</i>	39.	—
<i>Valmont</i>	34.	2.
<i>Dorville</i>	35.	survit.
<i>Lucas</i>	32.	10.
<i>Charlotte</i>	32.	survit.
<i>Pasquin</i>	31.	—
<i>Alma-Vira</i>	30.	—
<i>Geronte</i>	30.	—
<i>Bejard</i>	30.	—
<i>Grondard</i>	27.5	—
<i>Gros Renc</i>	27.	—
<i>Quiberon</i>	25.	—
<i>Lisette</i>	25.	—
<i>Sylvia</i>	25.	—
<i>Zélandia</i>	25.	—
<i>Torresina</i>	25.	—
<i>La Brie</i>	24.	—
<i>Argan</i>	22.	—
<i>Bartholo</i>	20.	—
<i>Alaine</i>	20.	—
<i>Géralde</i>	15.	—
<i>Scapinette</i>	14.	—
<i>Hector</i>	14.	—
<i>Damis</i>	12.5	28.

Je rappellerai que dans mon mémoire de 1908 sur l'actino-congestine (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1908), j'avais trouvé, pour la congestine préparée par le fluorure de sodium, et contenant 42 0/0 de matières minérales, la dose toxique égale à 0,075 : soit 0^{sr}.043 de matière organique et 0,035 pour une congestine préparée avec la glycérine, en chiffres ronds, pour ces diverses congestines, 0^{sr}.04 par kil. d'animal en injection intra-veineuse.

C'est à un chiffre analogue que me conduisent mes récentes expériences faites avec la congestine jaune et la congestine noire.

La dose toxique se trouve ainsi déterminée, et elle est voisine de 0^{gr},050; car *Flipote* a survécu 33 jours à cette dose, *Gorgibus* a survécu à 0^{gr},050 et *Horace* est mort à 0^{gr},060. *Alcmène* est morte à 0,045 au 21^e jour; d'autres chiens ont survécu à la dose de 0,045.

Il n'y a comme exceptions que *Valmont* et *Lucas*. Mais *Valmont* a reçu une congestine jaune purifiée par plusieurs redissolutions alcooliques, et probablement plus toxique.

Quant à *Lucas*, son histoire est assez intéressante. J'avais dans mon mémoire de 1907 montré que la congestine mise en solution augmentait de toxicité, comme si de protoxine elle passait à l'état de toxine. Pour *Lucas* la solution à 0,5 0/0 de congestine a été chauffée pendant deux heures à 50°, et alors injectée à la dose de 0,032. La même solution mise dans la glace a été injectée à *Martine*, à la dose de 0,045. *Martine* a survécu, tandis que *Lucas* est mort au 10^e jour.

Toutefois, si la toxicité augmente, elle n'augmente pas énormément. J'ai laissé pendant plusieurs jours une solution de congestine jaune à 0,5 0/0 (additionnée de fluorure de sodium afin d'empêcher les fermentations microbiennes), pour voir croître la toxicité. Du 5 mars au 12 mars pour *Almaviva*; du 5 mars au 16 mars pour *Bartholo*. *Almaviva* a reçu 0,03 et a survécu (mais a présenté des symptômes d'intoxication assez forte au moment de l'injection). *Bartholo* a survécu à la dose de 0,02.

Le tableau suivant qui donne les résultats d'expériences avec la congestine noire, montre que la dose toxique de la congestine noire est identique à celle de la congestine jaune, soit 0^{gr},05 par kil. Il n'y a donc pas là l'énorme différence de toxicité que nous avons vue entre les crépitines jaune et noire.

J'ai cherché à savoir si les chiens immunisés et anaphylactisés contre la crépitine ne présenteraient pas quelque immunité ou anaphylaxie contre la congestine; et ce résultat a été très net pour la congestine jaune.

CONGESTINE NOIRE

NOMS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	SURVIE EN JOURS
<i>Célimène</i>	80	0.5
<i>Loyal</i>	64	1.0
<i>Barbouille</i>	60	1.
<i>Bridorson</i>	50	survit.
<i>Dorine</i>	50	0.5
<i>Jodelette</i>	47	3.
<i>Pernelle</i>	45	survit.
<i>Alcandre</i>	45	—
<i>Lexempt</i>	40	—
<i>Escarbagnas</i>	40	—
<i>Lycidas</i>	40	—
<i>Angelique</i>	40	—
<i>Sotenville</i>	40	—
<i>Clitandre</i>	35	—
<i>Dandin</i>	35	—
<i>Chrysale</i>	35	—
<i>Figaro</i>	30	—
<i>Antonio</i>	30	—
<i>Grippesoleil</i>	28	—
<i>Cherubin</i>	28	—

Nous avons vu que pour la congestine jaune la dose toxique était de 0^{gr}.050. Cinq chiens ayant reçu depuis longtemps de la crépitine, ont reçu de la congestine.

CONGESTINE JAUNE (chiens ayant reçu de la crépitine.)

NOMS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	SURVIE EN JOURS
<i>Roscoff</i>	73	survit.
<i>Cordillero</i>	68	1
<i>Bolivar</i>	66	4
<i>Jamaïco</i>	62	survit.
<i>Pueblo</i>	48	survit.

Aucun de ces chiens n'a présenté de symptômes d'anaphylaxie (de crépitine à congestine). Mais il y a eu une immunité très nette chez *Roscoff* et chez *Jamaïco*.

Six chiens, ayant reçu depuis longtemps de la crépitine, ont reçu de la congestine noire, et il ne semble pas qu'ils aient eu quelque immunité.

CONGESTINE NOIRE (chiens ayant reçu de la crépitine).

NOMS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	SURVIE EN JOURS
<i>Panama</i>	77	0,2
<i>Cayenne</i>	65	2.
<i>Kakatoa</i>	65	0,2
<i>Ténériffa</i>	50	survit.
<i>Bogota</i>	50	survit.
<i>Crépita</i>	47	survit.

La limite toxique est donc la même pour les chiens crépitinés que pour les chiens normaux, quand l'injection seconde est de la congestine noire. Ils n'ont d'ailleurs présenté aucun phénomène d'anaphylaxie.

L'expérience inverse a été aussi faite, mais elle ne porte que sur deux chiens; ce qui ne permet pas de conclusion ferme : 2 chiens ayant reçu de la congestine antérieurement, ont semblé avoir une résistance un peu plus grande contre la crépitine (noire). *Diafoirus* et *Chrysale* ont résisté à la dose généralement mortelle de 0^{gr},022 de crépitine noire.

On peut donc admettre — encore que ces expériences doivent être reprises — que l'intoxication par un antigène modifie d'une manière notable la réceptivité à un autre antigène. Il est bien évident que les réactions d'immunité et d'anaphylaxie sont spéciales à tel ou tel antigène; mais la spécificité, si marquée qu'elle soit, n'est pas tout à fait absolue. Des recherches ultérieures fixeront le degré de cette spécificité.

L'anaphylaxie par la congestine diffère notablement de l'anaphylaxie par la crépitine.

Les symptômes immédiats sont également nets dans les deux cas; mais les chiens ayant reçu une injection seconde de crépitine ne meurent pas, même après avoir présenté des symptômes intenses d'anaphylaxie, tandis qu'après une injection déchaînante de congestine, les chiens meurent presque toujours. Ce qui revient à dire qu'il y a, après l'injection préparante de crépitine, formation de substances immunisantes, antitoxines qui font que des doses deux ou trois, ou même six fois mortelles, déterminent une anaphylaxie passagère, qui ne se termine pas par la mort, tandis qu'après une injection préparante de congestine, les accidents très intenses, immédiats, sont suivis d'une apparence de rétablis-

sement, mais la guérison ne dure que quelques heures et l'animal finit toujours par mourir d'anaphylaxie *chronique*. (Nous croyons en effet nécessaire d'introduire cette expression d'anaphylaxie chronique pour indiquer les accidents survenant quelques heures après l'injection déchainante. L'anaphylaxie aiguë est au contraire celle qui se produit immédiatement, dans la première heure).

Or, après la crépitine, il n'y a presque jamais d'anaphylaxie chronique, tandis qu'il y a toujours anaphylaxie chronique après la congestine, et qu'il est impossible avec la congestine de retrouver les faits d'immunité qui sont si nets avec la crépitine.

Voici, en effet, un tableau indiquant les résultats de l'injection déchainante de congestine (jaune). (Nous rappellerons que la dose toxique, chez l'animal neuf, est voisine de 0^{gr},05.)

CONGESTINE JAUNE. INJECTION DÉCHAINANTE

NOMS	DOSE en milligr. par kilog.	SURVIE en heures.
<i>Arnolphe</i>	20.	12
<i>Gorgibus</i>	20.	36
<i>Belise</i>	20.	12
<i>Géronte</i>	20.	24
<i>Eraste</i> (1).....	19.5	survit.
<i>Marfurius</i>	18.	12
<i>Mario</i>	15.	24
<i>Grippesoleil</i>	14.	12
<i>Escarbagnas</i>	12.	4
<i>Gros René</i>	12.	12
<i>Alma-Viva</i>	11.5	8
<i>Cherubin</i>	11.5	48
<i>Dorville</i>	11.	48
<i>Coville</i>	11.	9 jours.
<i>Géralde</i>	11.	16 —
<i>Juana</i>	9.5	survit.
<i>Damis</i>	8.5	12
<i>Pasquin</i>	8.4	12
<i>Argan</i>	8.2	12
<i>Angélique</i>	7.	survit.
<i>Corula</i>	7.	—
<i>Acaste</i>	6.	6
<i>Gassendi</i>	6.	12
<i>Thibaudier</i>	5.	5 jours.
<i>Criquet</i>	4.4	survit.
<i>Adrasta</i>	2.8	16
<i>Lexempt</i>	2.0	4

(1) La congestine a été injectée, mélangée à une solution de permanganate de potasse à 0.5 0/0. Les phénomènes d'anaphylaxie immédiate ont été très nets, mais *Eraste* a survécu.

On voit alors que, presque sans-exception, les chiens ayant reçu de la congestine jaune en injection déchainante finissent par mourir; généralement, ils meurent dans la nuit qui suit le jour de l'injection (faite en général vers 3 heures p. m.). Sur 26 chiens (car il faut éliminer *Éraste*) 4 seulement ont survécu; et alors ces doses étaient faibles : 0,0095, 0,007, 0,007 et 0,0044. *Lexempt* est mort en 4 heures après l'injection d'une dose 25 fois plus faible qu'une dose mortelle en cinq jours.

Avec la congestine noire les effets sont très différents, encore qu'en injection préparante la congestine noire soit tout aussi toxique (peut-être même un peu plus) que la congestine jaune.

CONGESTINE NOIRE. INJECTION DÉCHAINANTE

NOMS	DOSE EN MILLIGR. par kil.	SURVIE EN JOURS
<i>Lycidas</i>	20.	3 jours.
<i>Antonio</i>	13.	survit.
<i>Alcandre</i>	12.	survit.
<i>Cléante</i>	10.	survit.
<i>Escarbagnas</i>	10.	survit.
<i>Dandin</i>	9.6	2 jours.
<i>Pernelle</i>	9.0	1 jour.
<i>Angélique</i>	8.0	survit.
<i>Martine</i>	8.0	survit.
<i>Chrysale</i>	6.0	survit.

Ainsi, la congestine noire est beaucoup moins toxique en injection déchainante que la congestine jaune.

Voici une expérience qu'on peut regarder comme schématique, tellement elle est précise, qui établit bien cette différence.

Le 15 février, j'injecte à 4 chiens *Cléante*, *Adrasta*, *Escarbagnas* et *Lexempt*, la même dose, non mortelle, mais assez forte, de congestine, (soit 0^{gr},04 par kil.) *Cléante* et *Adrasta* reçoivent de la congestine jaune, *Escarbagnas* et *Lexempt* de la congestine noire.

Le 22 mars, soit au 35^e jour, *Escarbagnas* et *Cléante* reçoivent de la congestine noire. *Adrasta* et *Lexempt* de la congestine jaune.

Escarbagnas, après injection de 0^{gr},01, terminée à 3 h. 25, n'a d'abord aucun phénomène. A 3 h. 32, elle a quelques démangeaisons, se secoue la tête, se frotte les pattes. Mais ce prurit est

très passager. A peine peut-on dire que l'animal semble un peu fatigué.

Cléante, après injection de 0,01 par kil. de congestine noire, ne présente absolument aucun symptôme.

Par comparaison, on fait une injection de congestine jaune à *Adrasta* et à *Lexempt*.

Adrasta reçoit 5 c. c. d'une solution à 2 0/00 de congestine jaune (soit 0,0028 par kil.). A peine l'injection est-elle terminée que l'animal est pris de vomissements intenses. On le détache. La respiration est difficile, angoissée. Pupilles dilatées. Yeux hagards. Cécité psychique. Diarrhée sanglante. L'état est extrêmement grave: la respiration est dyspnéique, asphyxique. Cette intense anaphylaxie dure environ 32 minutes. L'animal paraît se remettre, mais meurt dans la nuit.

Lexempt reçoit à 4 h. 12 la très faible quantité de 0,002 de congestine jaune. Pendant l'injection, il vomit. On le détache. Les vomissements sont intenses. L'animal se couche, épuisé. La respiration est haletante, asphyxique. L'état s'aggrave de plus en plus. A 4 h. 27, yeux hagards, cécité psychique. Enfin l'animal meurt à 9 heures du soir.

Nous avons donc ce résultat paradoxal :

INJECTION PRÉPARANTE	INJECTION DÉCHAINANTE
C. noire.	C. noire. Rien.
C. noire.	C. jaune. Anaphylaxie intense.
C. jaune.	C. noire. Rien.
C. jaune.	C. jaune. Anaphylaxie intense.

De là cette conclusion :

1^o La congestine noire ne déchaîne pas l'anaphylaxie, mais elle prépare l'état anaphylactique;

2^o La congestine jaune déchaîne l'anaphylaxie, même quand l'injection première a été de la congestine noire.

On doit en conclure qu'il y a des substances *préparantes*, qui ne sont pas *déchainantes*, et que par conséquent la soi-disant spécificité de l'anaphylaxie n'est qu'une illusion. Sans doute, dans les produits que nous employons d'habitude (congestine brute, crépitine brute, ovalbumine, sérums hétérogènes) la spécificité

paraît évidente, mais ces produits sont sans doute des mélanges de très grande complexité contenant à la fois la substance préparante et la substance déchainante.

GAY et SOUTHARD, dans leurs belles études sur l'anaphylaxie du cobaye, étaient arrivés à une conclusion analogue.

La seule objection qu'on puisse faire, c'est que les congestines noire et jaune sont des mélanges, et que la congestine noire contient de la congestine jaune et réciproquement

Or, cette objection ne tient pas devant l'analyse.

Appelons a la noire et b la jaune, et supposons que la congestine noire soit un mélange de $10 a + b$, que, d'autre part, la jaune soit un mélange de $10 b + a$.

On a alors les assemblages suivants :

$10 a + b$	$10 a + b$	Rien.
$10 b + a$	$10 a + b$	Rien.
$10 a + b$	$10 b + a$	Anaphylaxie.
$10 b + a$	$10 b + a$	Anaphylaxie.

Mais cela est absurde, car il faudrait alors admettre que, quoique b ne déchaîne pas contre b , $10 b$ déchainent contre b .

On doit donc conclure de cette importante expérience, *que la congestine noire, encre qu'elle soit très préparante, n'est absolument pas déchainante.*

J'étais d'ailleurs, dès le début de mes recherches sur l'anaphylaxie, en 1902, arrivé à une conclusion analogue en chauffant à 100° les solutions de toxines actiniennes. Le pouvoir déchainant avait diminué, mais le pouvoir préparant n'était pas atteint, ou à peine. BESREDKA, dans ses études sur l'anaphylaxie, avait vu aussi quelque chose d'analogue, lorsqu'il modifiait par la chaleur le pouvoir antisensibilisateur des antigènes.

J'ai cité l'expérience de Cléante, Adrasta, Escarbagnas, Lexempt, parce qu'elle est d'une netteté parfaite. Mais d'autres parlent dans le même sens, très nombreuses, de manière à rendre le fait indiscutable.

Le 11 avril, Grippe-Soleil reçoit $0^{\text{gr}},028$ de congestine noire, extrêmement pure, et Antonio reçoit de cette même congestine $0,030$. Le 19 mai, soit au 39^{e} jour, une congestine jaune extrêmement pure, entièrement soluble dans $60\ 0/0$ d'alcool, est injectée à la dose de $0,014$ à Grippe-Soleil. Il vomit, a une diarrhée intense, se couche, mais cependant peut se tenir debout. La res-

piration est difficile, mais il n'a ni coma, ni cécité psychique. Il meurt dans la nuit.

Le même jour, on injecte à *Antonio* 0,013 de congestine noire à 4 h. 58. A 5 h. 8, *Antonio* a de la diarrhée, titube en marchant. Mais il ne vomit pas, et ne paraît pas très malade, quoiqu'il soit un peu affaîssé (moins que *Grippe-Soleil*). A 5 h. 15, il vomit. Il survit.

On a vu plus haut qu'*Escarbagnas*, préparée avec la congestine noire, n'a eu aucune anaphylaxie quand on lui a réinjecté la congestine noire.

Ainsi, *contre l'injection de congestine noire très pure, la congestine jaune très pure a été notablement plus déchainante que la congestine noire.*

Angélique a reçu le 30 novembre 0,04 de congestine noire. Le 28 janvier, au 59^e jour, elle reçoit 0,0064 de congestine jaune. L'état anaphylactique est très net. Vomissements, diarrhée, hébétude, presque de la cécité psychique, respiration dyspnéique, état grave.

Martine a reçu le 11 février 0,045 de congestine noire. Le 11 avril, soit au 59^e jour, elle reçoit 0^{gr},007 de congestine noire (une congestine noire très bien purifiée). Effet absolument nul. Alors on lui injecte 0,007 de congestine jaune très pure. Aussitôt elle a de la diarrhée, de l'abattement, ne peut plus se tenir debout, et pendant un moment est tout à fait insensible. Mais ces symptômes graves disparaissent vite.

Angélique, déjà expérimentée deux fois (et qui a reçu de la congestine noire et de la congestine jaune), reçoit d'abord 0,007 de congestine noire. Nuls effets. Alors on lui injecte de la congestine jaune, 0,007, et aussitôt se déclarent des phénomènes graves d'anaphylaxie qui, d'ailleurs, passent vite.

Ces expériences sont extrêmement instructives ; montrant qu'un chien anaphylactisé par la congestine noire est beaucoup plus sensible à l'injection déchainante de congestine jaune qu'à celle de congestine noire elle-même.

Si l'on compare ces résultats aux injections faites avec les crépitines noire et rouge, on est amené à conclure que, dans une toxine naturelle, il y a probablement deux substances différentes, l'une surtout préparante, l'autre surtout déchainante, ce qui infirme dans une certaine mesure l'apparente spécificité de l'anaphylaxie.

§ VI. — ANTIANAPHYLAXIE AVEC LA CONGESTINE

J'ai pu répéter avec la congestine une belle expérience de BESREDKA sur l'antianaphylaxie. Les résultats ont été très nets.

Le 26 mai, *Cléante* et *Labrie*, préparés par des injections antérieures de congestine, reçoivent dans le péritoine; *Cléante*, 0,015 et *Labrie*, 0,017 de congestine jaune. Ils ne paraissent malades ni l'un ni l'autre, et en effet l'injection péritonéale de congestine qui passe lentement dans le sang ne déchaîne que très difficilement l'anaphylaxie. Pourtant, cette injection a été antianaphylactisante; car, 48 heures après, quand une autre injection a été faite par la veine, *Cléante* et *Labrie* n'ont présenté que peu de symptômes. *Labrie*, qui avait reçu 0,024, a de la diarrhée et vomit, mais il est à peine malade, et d'ailleurs il survit à cette dose, qui sans exception est mortelle, en injection seconde, chez des animaux anaphylactisés. De même, *Cléante* reçoit 0,021 dans la veine; il vomit, mais est à peine malade, conserve toute sa gaieté et survit.

On peut faire l'expérience d'une autre manière, c'est-à-dire, comme l'a aussi proposé BESREDKA, en faisant l'injection très diluée.

Le 3 mai, on prend 4 chiens préparés par des injections antérieures de congestine, et on injecte à deux d'entre eux la solution concentrée de congestine jaune très pure à 2 0/0.

Chérubin reçoit 0^{gr},0115 et présente une anaphylaxie très forte. Il meurt le 5 mai.

Alma viva reçoit aussi 0,0115, et a une intense anaphylaxie. Il meurt au bout de 4 heures.

Au contraire, les 2 autres chiens, qui sont injectés par une solution très diluée 0,2 0/00 (soit 100 fois plus faible), ne sont pas très malades.

Figaro reçoit 0,0115, de 4 h. 17 à 6 h. 12. Il a de la diarrhée et un prurit extrêmement fort, frénétique. Mais il n'est pas malade, et d'ailleurs il survit.

Alain reçoit aussi 0,0115 en injection diluée; de 6 h. 22 à 6 h. 45. Il n'est nullement malade, a des démangeaisons assez fortes. Mais c'est tout, et il survit.

Cette expérience est absolument concluante; mais je dois ajouter qu'elle ne paraît pas devoir réussir toujours, ou, tout au

moins, pour qu'elle réussisse, l'injection doit être faite avec une certaine lenteur. *Marfurius* et *Bélise*, préparés par des injections antérieures, reçoivent le 19 mai : *Marfurius*, 0,018 de congestine jaune en solution (concentrée) à 2 0/0 et *Bélise* 0,021 d'une solution (diluée) à 0,3 0/00. *Marfurius* et *Bélise* meurent dans la nuit, après avoir eu des phénomènes d'anaphylaxie intense, surtout *Marfurius*.

Mais l'expérience faite sur *Bélise* a donné un résultat bien intéressant, que d'autres expériences viennent nettement confirmer.

De 4 h. 3 à 4 h. 7, elle reçoit 0,0026 de congestine, dose faible, mais qui suffit à provoquer l'anaphylaxie. De 4 h. 7 à 4 h. 13, sans nouvelle injection, l'état s'aggrave, la respiration est dyspnéique, angoissée. L'animal reste couché par terre, sans pouvoir se relever. Les pupilles sont dilatées, les yeux hagards ; insensibilité absolue, état très grave à 4 h. 17.

A 4 h. 17, on continue l'injection de 4 h. 17 à 4 h. 30. *Pendant l'injection même* (injection de 0^{gr},195 de congestine), *elle se rétablit*, si bien que, lorsque l'injection est finie, *Bélise* va beaucoup mieux, peut aller et venir dans le laboratoire. A 6 heures, elle semble en très bon état.

J'avais déjà mentionné (p. 795, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1909), l'expérience faite avec le chien *Pourceaunac*, anaphylactisé, qui reçoit 0,0037 de congestine. Il est extrêmement malade, mourant, et l'injection d'une dose énorme de 0^{gr},08 *n'amène aucun changement*.

Avec la crépitine, le résultat est le même. Le chien *Lille*, anaphylactisé, reçoit à 5 heures 0,002 de crépitine noire ; la respiration devient dyspnéique, il se couche, très hébété, avec symptômes anaphylactiques très nets. A 5 h. 8, on continue l'injection, et, de 5 h. 8 à 5 h. 12, il reçoit 0,008 de crépitine noire. *Il semble qu'il se rétablisse pendant l'injection même*, et, quand l'injection est terminée, il est tout à fait guéri et ne paraît nullement malade.

Cocotte, anaphylactisée, reçoit de 3 h. 20 à 3 h. 24 la dose de 0,0033 de crépitine. A 3 h. 27 elle vomit (vomissements fécaloïdes), est hébétée, triste, a de la titubation et de l'incertitude dans la démarche. A 3 h. 30, elle est remise. Alors, de 3 h. 30 à 3 h. 33, on injecte encore 0,0033. Nul effet, sinon des démangeaisons. On achève l'injection, qu'on pousse à l'énorme dose de

0^{gr},014 et les symptômes s'aggravent à peine. La conscience est intacte. L'animal va, vient, peut se tenir debout et se conduire.

On peut expliquer assez facilement tous ces phénomènes d'apparence paradoxale, si l'on se représente bien la différence qu'il y a entre l'injection d'une substance toxique chez un animal normal et l'injection d'un antigène chez un animal anaphylactisé. La substance toxique agit avec d'autant plus d'intensité qu'elle est en quantité plus grande. Soient les doses a , $2a$, $3a$, $4a$, etc., l'intensité des phénomènes sera 1, 2, 3, 4, etc. Mais, sur un animal anaphylactisé, la toxicité de l'antigène est nulle en soi; elle n'acquiert de valeur que par sa combinaison avec la toxogénine. Si donc il n'y a que 2 de toxogénine capables de se combiner avec 2 d'antigène, peu importe qu'on injecte encore 3, 4, 5, 6 d'antigène; l'intoxication (par l'apotoxine) s'arrêtera, et poursuivra son évolution normale, passagère. En fait, si la quantité de toxogénine est faible, quelques minutes après l'injection de 2 de l'antigène, tout sera terminé, et les injections de 3, 4, 5, 6 d'antigène n'auront plus aucun effet, puisqu'il n'y aura plus de toxogénine libre pour se combiner avec l'antigène et former la seule combinaison qui soit toxique, l'apotoxine.

Supposons, pour bien fixer les idées sur ce point important, que 1 gramme d'émulsine en se combinant avec 1 gramme d'amygdaline, va donner 1 gramme d'acide cyanhydrique, dose immédiatement mortelle, alors, si un animal n'a que 0,1 d'émulsine dans son sang, l'injection de 10 grammes d'amygdaline n'aura pas plus d'effet que l'injection de 0,1. Aussi, après avoir injecté 0,1 d'amygdaline, ne verra-t-on pas croître les effets toxiques, encore qu'on continue l'injection.

C'est probablement de cette manière qu'on peut expliquer très simplement les effets de l'antianaphylaxie. Une très faible dose d'antigène va produire une très faible quantité d'apotoxine, laquelle donnera son effet toxique, *mais se détruira vite*, (car c'est le caractère de l'apotoxine d'être rapidement détruite). Alors le sang de l'animal ainsi anaphylactisé contiendra une moindre quantité de toxogénine, puisque une partie de cette toxogénine s'est déjà combinée à l'antigène; et, par conséquent, il ne pourra plus réagir aux injections déchainantes ultérieures, ayant perdu tout ou partie de sa toxogénine.

C'est ainsi que les phénomènes les plus paradoxaux de l'ana-

phylaxie peuvent être expliqués par une théorie extrêmement simple, laquelle n'est que la généralisation du fait élémentaire de l'intoxication cyanhydrique par l'amygdaline et l'émulsine.

§ VII. — De l'anaphylaxie générale.

Je puis démontrer que les animaux ayant reçu une toxine anaphylactisante sont devenus par ce seul fait un peu plus sensibles à l'action des autres poisons.

J'appellerai, pour simplifier, *anaphylaxie générale* cette hypersensibilité plus grande, acquise par des injections antérieures. Cet accroissement de sensibilité générale est un phénomène de grande importance : car il peut dans une certaine mesure expliquer les variations individuelles aux diverses actions toxiques, que présentent des sujets de même espèce, de même âge, de même race.

Je n'ai fait cette démonstration que pour la sensibilité à un seul et unique poison, l'apomorphine, et même pour un seul symptôme de l'intoxication apomorphique, le vomissement. Mais les résultats sont tout à fait probants, et, à ce qu'il semble, légitimement une conclusion générale.

DOSE ÉMÉTISANTE DE L'APOMORPHINE. CHIENS NORMAUX

DOSE en milligr. par kil.	VOMISSEMENT ou non.	INTERVALLE entre l'injection et le vomissement (en min.)	DOSE en milligr. par kil.	VOMISSEMENT ou non.	INTERVALLE entre l'injection et le vomissement (en min.)
4.0	N.	6	2.75	V.	5
4.0	N.		2.75	V.	7
3.7	N.		2.75	V.	8
3.7	N.		2.75	V.	
3.7	N.		2.75	N.	
3.5	V.		2.75	N.	
3.2	N.		2.75	N.	
3.15	N.		2.75	N.	
3.10	N.		2.75	N.	
3.10	N.		2.75	N.	
3.0	V.	5	2.75	N.	

Si l'on prend une solution de chlorhydrate d'apomorphine à 0^{gr},25 par litre, on constate que les chiens normaux auxquels on injecte dans le péritoine 2 c. c. par kil. de la solution, soit 0^{gr},0005 d'apomorphine, vomissent au bout de 5 à 8 minutes, et cela

sans exception. A la dose de 1 c. c. 1, soit 0,00275, en général, ils ne vomissent pas. En général, à la dose de 0,004, ils ne vomissent pas.

En outre le vomissement se produit très vite. Les chiens qui sont restés 8 à 9 minutes sans vomir, définitivement ne vomissent pas.

Or, chez les chiens qui ont reçu antérieurement de la crépitine ou de la congestine, comme si le centre bulbaire qui préside au vomissement était devenu plus sensible, le vomissement est la règle, pour des doses qui ne font pas vomir les chiens normaux.

Je n'indique pas la dose, car elle a toujours été de 1 c. c. 1 par kil., soit 0^{gr},00275.

CHIENS ANAPHYLACTISÉS PAR LA CRÉPITINE
DOSE DE 0,00275 D'APOMORPHINE

NOMS	DURÉE de l'anaphylaxie en jours.	VOMISSEMENT ou non.	INTERVALLE entre l'injection et le vomissement en minutes.
<i>Raminto</i>	14	N.	
<i>Bolivar</i>	16	N.	
<i>Louisiane</i>	17	V.	11
<i>Concepcion</i>	17	V.	3
<i>Roscoff</i>	19	V.	14
<i>Australia</i>	22	N.	
<i>Lille</i>	29	V.	15
<i>Honolulu</i>	34	V.	18
<i>Bornéa</i>	36	V.	14
<i>Vancouvera</i>	38	V.	6
<i>York</i>	61	N.	
<i>Diémen</i>	66	V.	6
<i>Dayton</i>	68	V.	7
<i>Kinley</i>	73	N.	
<i>Hudson</i>	94	V.	7
<i>Texas</i>	102	N.	
<i>Boston</i>	130	N.	

(1) *Diémen* n'a reçu que 0,00235 de chlorhydrate d'apomorphine.

CHIENS ANAPHYLACTISÉS PAR LA CONGESTINE
DOSE DE 0,00275 D'APOMORPHINE

NOMS	DURÉE de l'anaphylaxie en jours.	VOMISSEMENT	INTERVALLE entre l'ingestion d'apomorphine et le vomissement (en minutes).
<i>Alain</i>	15	N.	
<i>Figaro</i>	15	N.	
<i>Géralde</i>	15	V.	54
<i>Scapinette</i>	18	N.	
<i>Dorville</i>	24	V.	32
<i>Grippe-Soleil</i> ...	24	V.	6
<i>Antonio</i>	24	N.	
<i>Angélique</i>	25	V.	4

NOMS	DURÉE de l'anaphylaxie en jours.	VOMISSEMENT ou non.	INTERVALLE entre l'ingestion d'apomorphine et le vomissement (en minutes).
<i>Martine</i>	27	N.	
<i>Escarbagnas</i> ...	43	V.	9
<i>Bélise</i>	48	N.	
<i>Bartholo</i>	50	N.	
<i>Criquet</i>	60	N.	
<i>Covielle</i>	60	V.	22
<i>La Brie</i>	63	V.	23
<i>Juana</i>	72	V.	5
<i>Lisette</i>	75	N.	
<i>Dorimène</i>	80	N.	
<i>Quiberon</i>	82	V.	38
<i>Mario</i>	86	N.	
<i>Eraste</i>	93	V.	47
3. <i>Crépitine et congestine.</i>			
<i>Diafoirus</i>	49	V.	10
<i>Chrysale</i>	30 (?)	V.	8
<i>Bogota</i>	60	V.	5
<i>Pueblo</i>	79	V.	37
<i>Boléro</i>	82	N.	
<i>Jamaïco</i>	171	N.	

La statistique brute nous donne les résultats suivants, même en supposant, ce qui est défavorable à notre hypothèse, que les chiens normaux ont tous reçu une dose plus faible que celle qu'ils ont reçue en réalité (0^{gr},00275).

NOMBRE des expériences.	ETAT DES CHIENS EXPÉRIMENTÉS	ANIMAUX AYANT VOMI	
		NOMBRE absolu.	NOMBRE centésimal.
XXII.	Normaux.	6	27
XVII.	A. par la crépitine.	10	58
XXI.	A. par la congestine.	10	47
VI.	A par les deux toxines.	4	66
	Ensemble des chiens anaphylactisés.	24	55

Mais cette statistique brute serait erronée, car on a parfaitement le droit d'éliminer : 1^o un chien neuf jeune âgé de moins de six mois (chez les jeunes chiens le vomissement est très facile, et pour de faibles doses); 2^o les chiens préparés depuis trop longtemps, ou depuis trop peu de temps (cent jours et plus; 16 jours et moins); 3^o les chiens *Dorimène* et *Boston*, qui avaient reçu des toxines chauffées (1).

On peut donc compter ces chiens comme des chiens non anaphylactisés.

En outre on peut faire rentrer dans les chiens à crépitine les animaux ayant reçu aussi de la congestine, de même qu'on peut ranger ces chiens dans les chiens à congestine.

Modifiée ainsi, la statistique de ces expériences donne les résultats suivants :

	NOMBRE	ANIMAUX AYANT VOMI		MOYENNE de l'inter- valle entre l'injection et le vo- missement (en min.)
		NOMBRE absolu.	NOMBRE centésimal.	
Normaux, non anaphylactisés ou anaphylactisés depuis plus de cent jours.	31	6	19	6
Préparés par la crépitine.	17	11	82	12
Préparés par la congestine.	22	13	58	14

Ce sont là des chiffres bien démonstratifs qui établissent, en toute évidence, que la sensibilité au vomissement est devenue plus grande chez les chiens anaphylactisés. Tout se passe comme si le petit groupe de cellules nerveuses bulbaires, qui préside au vomissement, avait été, par l'injection antécédente de toxine, mis dans un état d'éréthisme, de susceptibilité particulière, le rendant plus excitable par les poisons émétiants.

On remarquera ce fait curieux que, chez les chiens normaux, le vomissement est rapide, tout au plus 8 minutes après l'injection péritonéale d'apomorphine, tandis que, chez les chiens anaphylactisés, le vomissement est parfois très tardif. Chez *Géralde*, par exemple, il n'a eu lieu que 54 minutes après l'injection, chez *Quiberon*, 38 minutes, etc. Tout semble indiquer un processus un peu différent du processus émétiant qui se produit chez l'animal intact.

Je serais tenté de croire qu'une étude nouvelle est nécessaire de l'*anaphylaxie générale*. Tous les auteurs ont jusqu'à présent

(1) Je noterai aussi qu'une chienne, *Spitzberga*, dont la rate avait été enlevée il y a trois mois, a eu un vomissement extrêmement rapide, moins de 3 minutes après l'injection. Je ne la fais pas rentrer dans ma statistique. Cette rapidité extrême du vomissement chez un chien privé de rate mérite d'être retenue.

étudié l'*anaphylaxie spécifique*. Mais l'anaphylaxie générale, provoquée par l'injection d'un antigène, sera sans doute du plus grand intérêt, et elle entraînera, au point de vue pratique, des conséquences importantes.

§ VIII. — CONCLUSIONS ET THÉORIE (1)

Il résulte de ces faits une conclusion générale, (et c'est la seule sur laquelle j'insisterai dans ce dernier chapitre, car je ne reprends pas ici les nombreux faits de détail mentionnés dans les pages précédentes), c'est que l'injection d'un antigène développe une substance toxogénique (toxogénine) tout aussi régulièrement qu'il développe une antitoxine. Il y a parallélisme absolu entre ces deux fonctions réactionnelles de l'organisme, et on peut avec grand profit les comparer.

La définition de l'antitoxine est : substance qui, mélangée *in vitro* (ou *in vivo*) avec la toxine, en atténue les effets.

La définition de la toxogénine est : substance qui, mélangée *in vitro* (ou *in vivo*) avec la toxine, produit un poison bien plus actif que la toxine (poison que j'ai appelé apotoxine), dont les effets sont ceux de l'anaphylaxie.

Quant aux effets de l'apotoxine, poison résultant de la combinaison de la toxogénine avec l'antigène, on peut les diviser, selon leur intensité, en quatre degrés, qui sont les phases de l'anaphylaxie.

1° Excitabilité accrue et prurit;

2° Anxiété respiratoire. Respirations dyspnéiques. Congestion gastro-intestinale. Faiblesse musculaire. Fatigue;

3° Coma. Perte de connaissance. Insensibilité. État asphyxique grave;

4° Mort avec paralysie de la respiration, et congestion hémorragique des appareils gastro-intestinal et pulmonaire.

On peut prouver que la spécificité n'est pas absolue. En effet, dans une toxine naturelle, et probablement dans toute humeur

(1) Je ne donne pas ici les résultats d'autres expériences, faites avec P. LASSABLIÈRE, sur la numération des leucocytes chez les chiens ayant subi des injections de crépitine et de congestine. Elles prouvent que, même au bout de six mois, il y a encore de l'hyperleucocytose. Ce sera l'objet d'un mémoire ultérieur.

organique toujours très complexe, on peut trouver une substance préparante, différente de la substance déchainante. On peut, par la chaleur, dissocier la propriété préparante et la propriété déchainante. Tout se passe comme si la propriété de développer une toxogénine dans le sang n'était pas identique à la propriété de se combiner avec la toxogénine (lentement formée par l'organisme) pour créer l'apotoxine, poison de l'anaphylaxie. Il est vraisemblable que, par une analyse chimico-biologique plus précise, on séparerait complètement la propriété préparante et la propriété déchainante.

D'autant plus qu'on peut démontrer (notamment par la sensibilité au pouvoir émétisant de l'apomorphine) que tout animal ayant reçu une injection anaphylactisante est devenu un peu plus sensible qu'il n'était d'abord : l'injection d'un antigène l'a rendu plus susceptible aux actions toxiques quelconques, encore que ce soit surtout à l'injection du même antigène qu'il soit devenu plus sensible. *Mais il y a une anaphylaxie générale acquise, qui, pour faible qu'elle est, n'en est pas moins parfaitement réelle, et a modifié de manière définitive les réactions de l'organisme.*

On peut prouver qu'il existe une toxogénine après injection d'un antigène, par les preuves suivantes, toutes assez décisives, isolément, mais qui, réunies, ont une puissance démonstrative absolue.

1° L'injection du sang d'un animal anaphylactisé à un animal neuf anaphylactise l'animal neuf;

2° Le mélange (*in vitro*) du sérum anaphylactique avec l'antigène provoque immédiatement les accidents de l'anaphylaxie;

3° L'injection d'une dose très faible ou très lente d'antigène amène l'antianaphylaxie, par dislocation de la toxogénine, laquelle n'existe qu'en quantité très limitée;

4° Le maximum des effets anaphylactiques obtenus par l'injection de l'antigène chez un animal anaphylactisé est très vite atteint; car il est déterminé par la quantité de toxogénine existant dans le sang, et l'injection d'une dose d'antigène beaucoup plus forte n'augmente pas les accidents anaphylactiques.

On me permettra, pour terminer, une hypothèse qui n'est malheureusement pas susceptible de vérification.

Au point de vue de la finalité des êtres, et de leur adaptation

au milieu, on comprend difficilement pourquoi un animal, après une injection première, devient plus sensible à l'injection seconde d'un poison albuminoïdique, alors qu'à l'action d'un cristalloïde il ne réagit pas autrement à la seconde injection qu'à la première.

Ne serait-ce pas — et c'est l'hypothèse non vérifiable que je propose — parce qu'une albumine est susceptible d'entrer dans la composition normale des cellules? Or cela est un danger. Il ne faut pas que les albumines du sérum de cheval, différentes des albumines du sérum de cobaye, entrent dans la structure chimique du protoplasme cellulaire du cobaye. Autrement dit: *la réaction anaphylactique est une fonction de défense pour maintenir intacte et homologue la constitution chimique de chaque espèce animale, et ne pas permettre à des albumines étrangères de s'introduire dans le protoplasma des cellules, ce qui modifierait la structure chimique, spécifique, de ces cellules.*

Sur la température mortelle des tyrosinases végétales

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET ROSENBLATT

Lorsqu'on examine la manière dont se comportent les solutions de tyrosinase d'origines végétales différentes quand on les soumet à un chauffage progressif, on trouve que la disparition de l'activité diastasique a lieu à des températures souvent très éloignées les unes des autres: certaines tyrosinases sont détruites vers 65 à 70°; d'autres résistent presque à la température de l'ébullition.

Cette observation, tirée de faits publiés particulièrement par l'un de nous (1), peut s'expliquer par l'existence de plusieurs espèces de tyrosinases, les unes très altérables par la chaleur, les autres plus résistantes. Toutefois, en raison de l'extrême sensibilité des diastases à l'action des réactifs, il était nécessaire de rechercher, avant d'admettre cette explication, si l'on était simplement en présence d'une seule et unique tyrosinase dont la température mortelle serait plus ou moins influencée par les substances, variables dans chaque cas, qui l'accompagnent dans les milieux naturels et dont il est, jusqu'ici, impossible de la débarrasser.

Nos expériences ont porté, suivant les plantes, sur une ou deux sortes de préparations diastasiques: 1° de simples macérations glycérinées, obtenues en laissant quelques jours en contact une partie d'organe végétal, coupé en petits morceaux, avec deux parties de glycérine pure du commerce et filtrant ensuite au papier. Nous avons opéré ainsi avec les organes verts du gui,

(1) Voir surtout: GABRIEL BERTRAND, *Bull. Soc. chim.*, 3^e série, t. XV, p. 1218 (1896); GABRIEL BERTRAND et W. MUTERMILCH, *idem*, 4^e série, t. I, p. 837 (1907).

avec les racines de la betterave, les tubercules de la pomme de terre et avec tous les champignons; avec le son de froment, qui est exempt d'eau, nous avons pris de la glycérine étendue de la moitié de son poids d'eau, au lieu de glycérine pure;

2° Des préparations sèches, relativement purifiées, obtenues en soumettant à une précipitation par trois volumes d'alcool fort, soit une macération aqueuse (cas du son de froment et des lentilles), soit le suc végétal, extrait à la presse (cas des racines de betterave, des tubercules de dahlia et de pommes de terre). Le précipité a été repris par l'eau, puis filtré et l'on a précipité à nouveau par l'alcool, enfin la tyrosinase a été séchée dans le vide. Au moment de l'emploi, on a fait dissoudre la préparation dans 50 fois son poids d'eau distillée.

Pour déterminer les températures mortelles, on a introduit 1 c. c. de macération glycinée ou de solution aqueuse de tyrosinase dans un tube à essais très étroit, puis on a placé celui-ci dans un bain-marie réglé d'avance et maintenu à une température constante. A l'aide d'un thermomètre, plongeant dans le tube, on a suivi l'échauffement du liquide diastasique et, à partir du moment où l'équilibre a été atteint, c'est-à-dire après 2 à 3 minutes, on a prolongé le chauffage exactement 3 minutes. On a enlevé alors le tube du bain-marie et on y a ajouté 1 c. c. de solution de tyrosine au millième. On a noté comme température mortelle celle qui rendait la diastase inactive au point de ne plus donner de coloration avec la tyrosine, même après 24 heures de contact.

Les températures mortelles n'ont été recherchées que de 5 en 5 degrés : il nous a paru inutile, étant donnée la contingence du phénomène, de pousser plus loin l'approximation. Voici les résultats que nous avons obtenus :

Noms des espèces végétales :	Températures mortelles.
<i>Amanita rubescens</i> Fr., <i>Tricholoma Nudum</i> Bull., <i>Lactarius subdulcis</i> Bull., <i>Lact. rufus</i> scop., <i>clitocybe</i> spc.?	entre 60 et 65°.
<i>Tricholoma grammopodium</i> Bull., <i>Laccaria laccala</i> scop., <i>Lactarius plumbeus</i> Bull., <i>Russula lepida</i> Fr., <i>R. emetica</i> sch., <i>R. nigricans</i> Bull., <i>Psalliota campestris</i> L., <i>Hyel-num repandum</i> L.	entre 65 et 70°.

Noms des espèces végétales :	Températures mortelles.
<i>Russula queletii</i> Fr., <i>R. rubra</i> Fr., <i>R. delicata</i> Fr., <i>R. cyanoxantha</i> Sch. <i>Badhania populina</i> Lister (1), tubercules de dahlia, tiges et feuilles de gui.....	entre 70 et 75°.
<i>Hypholoma fasciculare</i> Huds., Pomme de terre (précipitée).....	entre 75 et 80°.
Lentilles, pomme de terre (mac. glyc.).....	entre 80 et 85°.
Betterave (mac. glyc.).....	entre 85 et 90°.
Son de froment (précip. ou mac. glyc.), — racine de betterave (précipitée).....	entre 90 et 95°.

Ce n'est pas, comme il est facile de s'en rendre compte par l'examen de ce tableau, la nature du dissolvant qui permet d'expliquer les différences entre les températures mortelles. Lorsqu'on opère comparativement dans l'eau et dans la glycérine, on trouve bien que ce dernier dissolvant protège la tyrosinase contre l'action destructrice de la chaleur; mais l'élévation de la température mortelle est seulement de quelques degrés. Ce n'est pas non plus le mode de préparation, puisqu'on observe des écarts aussi notables entre les simples macérations glycélinées qu'entre les préparations obtenues par précipitation avec l'alcool.

Il faut donc supposer que les substances solubles ou précipitables par l'alcool, qui accompagnent la tyrosinase dans les milieux naturels, ne sont pas la cause principale du phénomène examiné. Les différences tiendraient beaucoup plus à la nature, variable suivant l'origine, des substances diastasiques elles-mêmes.

Pour mieux juger de la valeur de cette hypothèse, nous avons cherché comment se comporteraient, au chauffage, des mélanges de tyrosinase thermostable et de tyrosinase thermolabile. Nous avons trouvé qu'en introduisant de la tyrosinase, du son de froment ou de la racine de betterave dans la macération de *Russula queletii* ou de *Lactarius subdulcis*, on n'abaissait pas sa température mortelle. Inversement, lorsqu'on mélangeait une macération de Russule avec une solution préalablement chauffée de tyrosinase du son ou de la betterave, on n'augmentait pas la résistance à la chaleur de la tyrosinase qu'elle contenait.

(1) Ce Mycomycète, en culture pure, nous a été gracieusement fourni par M. Pinoy.

Voici quelques détails sur ces expériences :

1° On a dissous de la tyrosinase du son, à la dose de 2 0/0, dans une macération glycinée de *Russula queletii*, puis on a chauffé, par portion d'un c. c., à 75, 80, 85, 90 et 95°. Enfin, après refroidissement, on a ajouté à chaque portion un volume égal de solution aqueuse de tyrosine au millième : on a obtenu, en 24 heures, une coloration noire avec la portion chauffée de 75 à 90°; aucune coloration, avec la portion chauffée à 95° (1);

2° L'expérience a été répétée avec les mêmes résultats en se servant de macération glycinée de Russule, préalablement portée à 75° pendant 5 minutes, au lieu de macération active;

3° On a opéré cette fois avec la tyrosinase de betterave et la macération glycinée de *Russula queletii*; les résultats ont été exactement les mêmes que dans les expériences 1 et 2;

4° et 5° Au lieu de dissoudre les tyrosinases du son et de la betterave directement dans la macération de Russule, on les a dissoutes dans l'eau distillée, à la dose de 2 0/0, puis on a ajouté un volume de la solution aqueuse à un volume de la macération glycinée. Après chauffage, on a constaté que la température mortelle des tyrosinases du son et de la betterave restait encore située entre 90 et 95°;

6° Cette expérience a été effectuée en chauffant un mélange de macération glycinée de *Russula queletii* et de macération glycinée de *Lactarius subdulcis*, à volumes égaux. L'inactivité du mélange a été atteinte, non pas entre 70 et 75°, mais entre 65 et 70°. Ce n'est pas la présence des produits solubles de *Lactarius subdulcis* qui a déterminé ce léger, mais cependant très net abaissement de la température mortelle; c'est la dilution dans la glycérine. Quand on mélange la macération de Russule avec des volumes croissants de glycérine préalablement étendue de la moitié de son poids d'eau, la température mortelle est influencée, elle diminue d'abord, de 5 degrés environ, pour des rapports de volume de macération et de glycérine compris entre 1 : 1 et 1 : 3, atteint, autour de cette dilution, la température mortelle initiale, s'élève ensuite à peu près de 5 degrés jusqu'à la dilution 1 : 9, puis reste constante, à partir de là, même lorsque le volume de glycérine ajoutée atteint 100 fois celui de la macération de Russule;

7° et 8° Enfin on a préparé deux mélanges, l'un à parties égales de solution aqueuse, préalablement chauffée à 95°, de tyrosinase du son et de macération glycinée de *Russula queletii*, l'autre tout à fait analogue, mais dans lequel la tyrosinase de la betterave remplaçait la tyrosinase du son. Chacun de ces mélanges, porté 3 minutes à 75°, a complètement perdu la propriété de colorer la tyrosine par oxydation.

Il existe donc, en résumé, chez les végétaux, des variétés de tyrosinases dont la température mortelle est très différente.

(1) La coloration noire avec la portion chauffée à 90° était un peu plus forte que si on avait opéré dans l'eau pure, mais analogue à celle obtenue, dans une expérience témoin, avec de la tyrosinase du son dans la glycérine diluée de la moitié de son poids d'eau.

Ce sont les tyrosinases, d'origine mycologique, qui sont les plus fragiles; les tyrosinases les plus stables proviennent, au contraire, des végétaux supérieurs. La présence des substances qui accompagnent les catalysateurs oxydasiques dans leurs milieux naturels ne suffit pas à expliquer les écarts observés entre les températures mortelles. Ceux-ci doivent être dus surtout à la nature, un peu différente de chaque cas, des tyrosinases elles-mêmes.

Nous ne voulons pas anticiper sur l'intérêt que ce fait présente au point de vue de la constitution des diastases, mais nous tenons à signaler au moins l'une de ces conséquences pratiques : c'est la nécessité qu'il y a, lorsqu'on veut utiliser la température mortelle pour caractériser une diastase ou la séparer d'autres substances analogues, de ne point admettre, *a priori*, comme exacte la température mortelle, déterminée avec une préparation ayant une origine différente.

Expériences diverses de transmission des Trypanosomes par les Glossines

(NOTES PRÉLIMINAIRES)

PAR G. BOUET ET E. ROUBAUD

Laboratoire d'Agouagon, Dahomey

Chargés de mission par l'Institut Pasteur et le gouvernement général de l'Afrique occidentale française, nous avons entrepris, depuis décembre 1909, une série d'expériences de transmission des *Trypanosomiasés* par les tsé-tsés.

La découverte de KLEINE (1) de la transmission, à longue échéance, par ces mouches, des virus du Nagana de l'est africain allemand et de la Maladie du sommeil, corroborée par BRUCE (2) et ses collaborateurs dans l'Ouaganda pour le virus humain et, enfin, plus récemment la belle série d'expériences de BOUFFARD (3), à Bamako (Soudan français), sur le virus de la Souma (*T. cazalboui*) ont été les premières phases de cette importante question.

Nous avons essayé au Dahomey de reprendre ces expériences et nos recherches ont porté sur différents virus, les uns endémiques dans la colonie et dans la région où nous opérons : virus de la maladie des chevaux de Gambie (*T. dimorphon*), Souma (*T. cazalboui*) et Baléri (*T. pecaui*); les autres d'origine diverses mais considérés comme virus types et provenant de l'Institut Pasteur : virus humain, *Nagana* du Zouloulouland, *Nagana* du Togo, *Surra* de Maurice. Notre laboratoire installé au kilomètre 235 du railway dahoméen à Agouagon (lat. n° 8°),

(1) *Deutsche mediz. Woch.*, 18 mars, 27 mai, 22 juillet, 11 novembre 1909.

(2) *Proc. R. Society*, t. LXXXI, octobre 1909.

(3) *Bull. Soc. Path. Exotique*, t. II, 10 nov. 1909, et *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXIV, 25 avril 1910.

présente toutes les conditions requises (locaux grillagés, absence de tsés-tsés aux abords des pavillons) pour éviter toute diffusion des virus de nos expériences.

I

TRANSMISSION DE *TR. CAZALBOUI* PAR *GL. PALPALIS* (2)

Nous avons d'abord institué une série d'expériences avec des *Gl. palpalis*, qui étaient au début les seules mouches que nous pouvions nous procurer dans la région (palmeraies, bords de l'Ouémé et du Zou) et nous avons opéré sur les virus de la Souma : *T. cazalboui*, puis sur *T. dimorphon* et *T. pecaui*.

EXPÉRIENCE I. — Une première expérience a porté sur des mouches capturées dans la nature, dans les palmeraies du voisinage. 70 *Glossines* sont nourries du 2 au 6 janvier sur des Cynocéphales puis, du 7 au 19, sur un cabri neuf témoin. Elles sont alors portées du 20 au 23 (*repas infectant*) sur un mouton infecté naturellement de *T. cazalboui*.

La série des *repas de transmission* sur des animaux neufs est ordonnée de la façon suivante :

24-25 janvier	Mouton n° 5	Reste 34 mouches.
26-30 —	Cabri n° 6	— 32 —
31- 4 février	Cabri n° 7	— 25 —
5- 9 —	Cabri n° 8	— 25 —
10-14 —	Cabri n° 9	— 17 —
15-25 —	Cynocéphale	— 12 —
26- 9 mars	Cobaye	— 3 —
10-20 —	Cabri n° 10	— 1 —

RÉSULTATS : *Toute la série des moutons et des cabris s'infecte*, depuis le cabri témoin, jusqu'au cabri 10, qui n'a été piqué que par une seule mouche, 47 jours après le premier repas infectant.

L'infection du cabri témoin montre que les *Glossines* étaient déjà en partie contaminées dans la nature. Aussi l'expérience ne fait-elle point ressortir la durée de la période d'incubation initiale nécessaire pour l'établissement du pouvoir infectant.

Une deuxième expérience qui a été réalisée avec des mouches nées de pupes au laboratoire nous a donné des résultats plus complets.

EXPÉRIENCE II. — 21 mouches nées au laboratoire dans le courant de février et mars, sont nourries les 9 et 10 mars sur un cabri infecté (Trypan. = nombreux).

La série des *repas de transmission*, sur animaux neufs est ordonnée de la façon suivante :

11-12 mars	Cabri n° 13	Reste 20 mouches.
13-15 —	— n° 14	— 20 —
16 —	Mouton n° 18	— 20 —
17-20 —	Cabri n° 15	— 19 —
21-24 —	— n° 16	— 18 —
25-2 mai	Cobayes	— 7 —
3-4 —	Cabri n° 11	— 7 —
6-11 —	Cabri n° 12	— 4 —
12-2 juin	Cobayes	— 2 —
3-8 —	Cabri n° 13 bis	— 2 —
9- —	Cobayes	— 1 —

RÉSULTATS : Les cabris 13 et 14 ne s'infectent pas. Le mouton 18 et *tous les autres cabris s'infectent*, y compris le cabri 13 bis, piqué par 2 mouches, *trois mois* après les repas infectants. L'expérience n'est point encore terminée actuellement. Dans cette expérience comme dans les autres, faites après deux ou même un seul repas infectant, c'est seulement à partir du SIXIÈME JOUR que s'est manifesté le pouvoir de transmission chez les mouches. La durée de la période d'incubation est donc, on le voit exactement, la même que celle qu'a indiquée BOUFFARD.

Au point de vue morphologique, on peut affirmer que l'évolution du *T. cazalboui* est exclusivement liée à la trompe des *Glossines* et se passe entièrement dans la salive proboscidiennne. Les individus fixés aux parois du labre sont tous du type *Leptomonas* ; ils sont de dimensions très variables, mais les formes géantes, à l'extrémité postérieure effilée en un long prolongement si caractéristique du *T. cazalboui*, s'observent surtout dans les infections naturelles des mouches, qui sont d'ailleurs plus intenses en général que les infections provoquées.

A l'intérieur du canal hypopharyngien, les formes, comme l'a entrevu BOUFFARD, sont nettement des formes *Trypanosomes* à l'exclusion le plus souvent des *Leptomonas* typiques. Ces *Trypanosomes* qui ne diffèrent en rien de ceux du sang, sont tantôt fixés aux parois de l'hypopharynx par l'extrémité du flagelle (et alors une pression brusque les libère assez facilement), tantôt libres et mobiles à l'intérieur de l'organe. Ils ne remontent jamais au-delà du canal commun des glandes salivaires, mais s'amassent presque toujours en quantité considérable au voisinage du débouché de ce canal dans l'hypopharynx.

En aucun cas, on n'observe de multiplication intestinale précédant ou suivant l'infection salivaire : le virus n'évolue point, ni au laboratoire, ni dans la nature par *infection totale*.

La proportion des mouches contaminées, après un repas sur le porteur de virus, paraît augmenter avec le temps. Le fait s'explique par l'augmentation même du nombre des parasites dans la trompe, au bout d'un certain temps, à la suite de la multiplication des premiers individus fixés, ce qui rend plus facilement perceptible l'état d'infection de l'organe. Pendant les premières heures, le nombre des *Leptomonas* fixés est d'ordinaire très faible, et pour peu que les parasites se soient localisés dans des replis peu transparents des pièces de la trompe, leur présence *in vivo* échappe complètement à l'observateur. C'est ainsi que, après 24 ou 48 heures, la proportion des trompes infectées ne paraissait être que de $1/4$ à $1/8$, dans nos expériences; alors qu'elle peut atteindre, après le septième ou le huitième jour par exemple, le chiffre $7/10$. Le total de nos différentes expériences indique une proportion de 20 0/0 de mouches infectées.

A quels phénomènes morphologiques est liée l'existence de la période d'incubation? On pouvait penser à un cycle bien défini dans la trompe, allant des formes *Leptomonas* fixées au labre, aux formes *Trypanosomes* de l'hypopharynx, ces dernières étant les seules susceptibles de propager l'infection chez le vertébré.

Différentes expériences ont été réalisées dans le but de vérifier cette hypothèse : l'inoculation à des cabris des différentes pièces disséquées de la trompe (labre et hypopharynx) n'a donné aucun résultat ; l'expérience est d'ailleurs excessivement difficile à réaliser en raison de la ténuité extrême de l'hypopharynx et les parasites ont le temps de se nécroser pendant le cours de la manipulation assez longue qu'exige cette délicate opération. Nous avons alors usé d'un autre mode d'expérimentation.

Des mouches, nées au laboratoire, étaient nourries le même jour sur un animal porteur de virus, puis fractionnées en plusieurs lots de 3 ou 4 mouches. Ces lots étaient ensuite mis à piquer *successivement* sur cabris neufs; l'un le premier jour, le second le deuxième jour, le troisième le troisième jour et ainsi de suite jusqu'au neuvième jour. Chacune des mouches d'un même lot, piquait individuellement un cabri, puis l'on sacrifiait toutes les mouches du lot et on examinait l'état de la trompe quelque temps

après la piqûre. Les lots restants étaient nourris sur cobayes jusqu'au moment de leur entrée en expérience.

Dans ces conditions nous avons constaté que le moment où les cabris s'infectent, c'est-à-dire à partir du sixième jour, *ne peut être décelé par aucun phénomène morphologique essentiel*. Les formes *Trypanosomes* font leur apparition dans l'hypopharynx déjà 48 heures après le repas infectant; le quatrième jour, on les observe parfois en assez grand nombre. Cependant les animaux piqués ne s'infectent pas. D'autre part, le sixième jour, des mouches sont déjà infectantes qui ne présentent encore qu'une infection faible de la trompe et en particulier de l'hypopharynx. On peut dire cependant que les mouches infectantes renferment toujours des *Trypanosomes* dans l'hypopharynx, et que ceux-ci font toujours défaut pendant les premières heures qui suivirent le repas infectant.

La période d'incubation n'est donc pas surtout marquée par des phénomènes d'ordre morphologique, mais plutôt par des changements d'ordre physiologique dans la virulence des parasites qui se sont sans doute accoutumés au milieu salivaire. On peut trouver la démonstration, très claire de cette modification de la virulence dans les variations même de la maladie chez les animaux piqués. Dans les deux expériences qui ont été réalisées, l'apparition dans le sang des *Trypanosomes* a été *plus rapide* chez les cabris du septième au huitième jour que chez ceux du sixième jour, et la maladie semble avoir été également plus sévère, bien que, l'expérience étant encore en cours, on ne puisse rien affirmer de définitif à ce sujet.

On voit par ce qui précède que la *palpalis* se comporte identiquement, ici, vis-à-vis du *T. cazalboui* comme à Bamako, dans le foyer enzootique de Souma étudié par BOUFFARD.

L'infection de la trompe est durable, et, chez la plupart des individus, ne s'arrête qu'avec la vie des mouches. Il paraît y avoir, au moins au début du phénomène, une certaine différence avec ce qui se passe chez les mouches du Congo à la latitude de Brazzaville. La proportion des mouches susceptibles de s'infecter, à Brazzaville, est beaucoup moindre; mais par contre, dès le deuxième et le quatrième jour, le développement des parasites y manifeste une ampleur que nous n'avons jamais rencontrée après un temps aussi court chez les mouches

du Dahomey. Déjà, à ce point de vue, on voit apparaître le bien-fondé de la notion des *races géographiques* de *Glossines* dont l'importance au point de vue de l'évolution des virus nous semble incontestable.

II

TRANSMISSION NATURELLE DE *Tr. dimorphon* PAR GL. PALPALIS. — TRANSMISSION EXPÉRIMENTALE DE *Tr. pecaudi* PAR GL. PALPALIS; DE *Tr. cazalbou* PAR GL. TACHINOÏDES ET LONGIPALPIS.

Si l'on met à part le *T. cazalbou* , dont la transmission à longue échéance est remarquablement facile; le *T. dimorphon* dont l'étude n'est pas encore assez avancée, et le *T. pecaudi* sur lequel nous reviendrons plus loin, on peut dire que pour tous les virus qui ont été utilisés et dont la liste est donnée ci-dessous, il n'y a point eu possibilité de transmission par les mouches qui nous entourent, au moins dans les conditions où nous sommes placés. Les résultats obtenus sont donc surtout intéressants par leur caractère négatif, c'est-à-dire par l'échec presque total des expériences.

Le total des mouches qui ont pris part jusqu'alors aux expériences avec les différents virus est le suivant :

<i> T. gambiense </i>	200 mouches.
Nagana du Zouloulouland	210 —
Nagana du Togo.....	160 —
Surra Maurice.....	90 —

A. TRANSMISSION NATURELLE DE *Tr. dimorphon* . — Les expériences de transmission des virus des types *dimorphon-congolense* par infections provoquées, n'ont été commencées qu'à une époque plus récente et l'on ne peut encore rien en déduire sur les chances d'infection des *Glossines* au laboratoire. Mais on peut dire que les mouches prises dans la nature sont très fréquemment infectantes pour les animaux d'expériences. Ainsi : un chien qui a servi à nourrir des *Glossines* femelles destinées à la reproduction, du 15 au 29 novembre, s'infecte du *T. dimorphon* . Un chien piqué le 12 janvier par 110 *Glossines* au cours d'une expérience de transmission du *T. togolense* (*Nagana du Togo*), douze jours après le repas infectant sur ce virus, et quinze après la capture

des mouches, s'est infecté de *T. dimorphon* après une incubation de quatorze jours.

Un mouton, témoin d'une expérience relative au *T. pecaudi* piqué les 18 et 19 avril par 120 mouches recueillies sur les bords de l'Ouémé, 5 et 6 jours avant, s'infecte du *T. dimorphon* après une incubation de 20 jours.

Un cabri, témoin d'une expérience relative au *T. dimorphon*, piqué du 18 au 22 mai, par 90 mouches recueillies la semaine précédente sur les bords du Zou, s'infecte de *T. dimorphon* après une incubation de 18 jours.

Il faut remarquer qu'un grand nombre de cobayes ont été également piqués soit par les mêmes mouches, soit par d'autres prises aux mêmes lieux pour différentes expériences; aucun n'a contracté d'infection ce qui démontre la sensibilité nulle de ces animaux à l'infection naturelle par les virus du type *dimorphon-congolense*, ce qui en fait, par suite, de mauvais sujets d'expérience.

Dans les lots de mouches qui ont infecté le cabri et le mouton, plusieurs cas d'infection totale, tantôt du tube digestif seul, tantôt du tube digestif et de la trompe, ont été rencontrés. Les formes ne diffèrent en rien de celles qui ont été décrites pour *T. congolense* et *T. dimorphon*. Il est donc de toute évidence que ces virus évoluent par infection totale, ce que ne fait point *T. cazalboui*.

B. TRANSMISSION DE TR. PECAUDI PAR GL. PALPALIS.

Deux expériences ont été réalisées avec *T. pecaudi* (origine du virus : cheval venant de Karimama (nord Dahomey) 9^e passage par cobaye et 3^e par chien). Dans la première expérience, 70 *Glossines*, prises dans la nature et nourries au préalable sur un chien témoin, ont été soumises à des repas infectants sur chien pendant 4 jours, du 24 au 27 janvier. Puis, du 28 janvier au 23 février elles ont piqué une série de 7 chiens neufs, se succédant à intervalles variant de 2 à 5 jours.

Aucun de ces animaux ne s'est infecté.

La seconde expérience a réuni 120 *Glossines* prises également dans la nature et nourries sur mouton témoin les 18 et 19 avril. L'expérience a été conduite de la façon suivante :

Du 20-21 avril, repas infectants sur cobaye (passage du virus) (Tr. nombreux.

22-23	avril	repas de transmission sur cobaye neuf.	39-1.
24-25	—	—	39-2.
26-27	—	—	39-3
28-29	avril	repas de transmission sur cobaye neuf.	39-4.
30-3	mai	—	39-5.
4-9	—	—	39-6.
10-14	—	—	39-7.
15-16	—	— chien	—
17-22	—	— cobaye	39-8.
23-28	—	—	39-9.
29-8	juin	—	39-10.

Dans cette expérience, seul le cobaye 39-6, piqué 12 jours après le dernier repas infectant, a présenté du *T. pecaudi* le 16 mai. Tous les autres cobayes et le chien sont restés indemnes.

Le résultat de cette expérience est sans doute incomplet. Les mouches contaminées ont dû mourir, peu de temps après avoir acquis leur pouvoir infectant qui n'apparaît ici que vers le 12^e jour. Il semble qu'un petit nombre de mouches seulement, sans doute une seule, ait pu réussir à contracter l'infection.

C. TRANSMISSION DE *Tr. CAZALBOUI* PAR *Gl. TACHINOÏDES* ET *LONGIPALPIS*.

— Vers le mois de mai, les *Gl. palpalis*, toujours relativement rares depuis le mois de décembre aux environs d'Agouagon, ont commencé à apparaître en plus grand nombre, surtout dans les gîtes des bords du Zou. Aussi toutes les expériences mentionnées ont-elles été reprises avec un chiffre de *Glossines* plus considérable. En même temps les *Gl. tachinoïdes* et *longipalpis*, qui faisaient absolument défaut jusqu'alors, ont également fait leur apparition au bord du fleuve Ouémé et de son affluent le Zou. Nous avons donc institué avec ces deux espèces toute une série d'expériences nouvelles. On peut, dès maintenant, exposer les résultats acquis pour le *T. cazalboui*, qui sont, comme on va le voir, identiques à ceux qui ont été obtenus avec la *palpalis*.

EXPÉRIENCE I. — 20 *Gl. tachinoïdes* capturées sur les bords du Zou, du 15 au 17 mai, sont nourries le 18 sur cabri témoin n° 16. Les 19 et 20, elles sont mises au repas infectant sur cabri (Tr. = a. nombreux). La série des repas de transmission sur animaux neufs est alors ordonnée de la façon suivante.

21-25	mai.....	Cabri n° 17
26-28	—	— n° 18
29-31	—	— n° 19

1- 4 juin.....	—	n° 20
5- 6 —	—	n° 21
7 et suivants.....		Cobaye.

RÉSULTATS: Le cabri témoin et le cabri n° 17 restent indemnes.

Le n° 18 s'infecte le 6 juin et meurt le 15.

Le n° 19 s'infecte le 7 juin.

Le n° 20 s'infecte le 9 juin et meurt le 11.

Le n° 21 s'infecte le 13.

EXPÉRIENCE II. — 20 *Gl. longipalpis* ♂ capturées la veille au fleuve Ouémé sont soumises les 23 et 24 mai au repas infectant sur cabris. (Tr. = a. nombreux et nombreux.)

La série des repas de transmission comporte :

Du 25 au 30 mai.....	Cabri neuf n° 2.
Du 31 au 2 juin.....	— — n° 3
Du 3 au 8 juin.....	— — n° 4
9 et suivants.....	Cobaye neuf.

RÉSULTATS : Les trois cabris piqués s'infectent : le n° 2, le 8 juin (mort le 14), le n° 3, le 9 juin et le n° 4, le 11.

Ces deux expériences, qui ne sont d'ailleurs point terminées, démontrent que le rôle enzootique de la *palpalis* vis-à-vis du *T. cazalboui*, ne lui est pas spécifique et que les deux espèces *tachinoïdes* et *longipalpis* se comportent exactement de la même manière à l'égard de ce virus. En fait, 95 *longipalpis* capturées dans la nature et nourries du 5 au 9 juin sur cabri, ont contaminé celui-ci de *T. cazalboui*.

Dans ces deux expériences, la durée de la période d'incubation chez les mouches a encore été de 6 jours, comme dans le cas de la *palpalis*. Au point de vue morphologique d'ailleurs, l'évolution se montre exactement la même chez les trois espèces. Il s'agit toujours d'une évolution durable strictement limitée au milieu salivaire et qui intéresse deux régions bien nettes de la trompe, le *labre*, où les parasites sont fixés sous la forme *Leptomonas* et l'*hypopharynx* où ils reprennent la forme *trypanosome* typique. Ce que nous avons écrit au sujet de la *palpalis* pourrait donc se répéter ici. Ajoutons qu'il n'y a jamais non plus d'infection totale.

Il est très probable que ces deux mêmes espèces *Gl. tachinoïdes* et *G. longipalpis* doivent transmettre aussi le *T. dimorphon*.

Chez une *Gl. longipalpis*, a été rencontrée une *infection totale* du tube digestif et de la trompe, qui ne laisse guère de doutes à cet égard : sur ce point comme sur beaucoup d'autres, nous serons sans doute prochainement fixés, mais il convient, avant de rien préciser, d'attendre le résultat des expériences qui sont actuellement en cours (1).

(1) Depuis la rédaction de ces notes, nous avons obtenu la transmission du *Tr. dimorphon* par les *Gl. longipalpis* et *tachinoïdes*, d'infections spontanées et aussi, dans les mêmes conditions, du *Tr. pecaudi* par *Gl. longipalpis*.

Influence de la réaction du milieu

Sur la formation des mélanines par oxydation diastasique.

PAR H. ALGULHON

(Travail du Laboratoire de M. G. Bertrand)

J'ai précédemment observé l'inactivité de l'acide borique vis-à-vis de l'action de la tyrosinase sur la tyrosine en dosant pondéralement la quantité de mélanines formée (1). Récemment M. Wolff, se servant de la même méthode, a pu mettre en évidence l'influence favorisante de petites quantités de phosphate disodique (2). J'ai cru intéressant d'essayer de mettre au point la question de l'influence de la réaction sur la formation oxydasique des mélanines.

Méthode de dosage des mélanines. — J'ai tout d'abord modifié la méthode primitive de dosage des mélanines qui était, telle que je l'ai donnée dans ma thèse, d'une application un peu longue. Après le temps d'action désiré de la tyrosinase sur une solution de tyrosine, on détruit la diastase par ébullition ou chauffage à l'autoclave. Cette destruction de la diastase, avant l'addition de tout réactif, est la précaution indispensable du dosage, la présence de diastase active empêchant la précipitation en bloc de la totalité des mélanines. Après refroidissement, on ajoute au liquide 50/0 d'une solution de chlorure de calcium au dixième, puis quelques gouttes de lessive de soude, de façon à alcaliniser très nettement. On agite et on laisse déposer. Au bout de quelques instants on voit les mélanines se coaguler et précipiter, sous l'influence à la fois du chlorure de calcium et du précipité de chaux qui agit par entraînement. On abandonne quelques

(1) *C. R. Acad., Sc.*, t. CXLVIII, p. 1340, 1909, et *Thèse Doct., Sc. Nat.*, Paris 1910 : *Présence et rôle du bore chez les végétaux.*

(2) *C. R. Acad. Sc.*, t. CL, p. 477, 1910.

heures et on filtre sur filtres tarés. On lave à l'acide chlorhydrique étendu qui dissout les matières minérales, puis à l'eau chaude. On sèche à poids constant et on pèse. La quantité de cendres du produit resté sur le filtre est négligeable. La filtration étant assez rapide dans ces conditions, l'opération demande 2 ou 3 heures seulement avec 100 ou 200 c. c. de liquide.

Influence de la réaction. — Dans les expériences suivantes, je faisais agir 2 c. c. de macération glycinée de *Russula queleti* Fr. sur 100 ou 200 c. c. de solution de tyrosine racémique ou de l-tyrosine (1) pendant 16 à 24 heures. Cette macération glycinée était alcaline à l'hélianthine (alcalinité saturée par 1 c. c. 3 d'acide sulfurique N/10 pour 2 c. c. de macération), acide à la phtaléine (Acidité correspondant à 0 c. c. 2 de soude N/10). Pour chaque expérience des séries de flacons étaient disposés avec la même quantité de diastase et de solution de tyrosine; un léger courant d'air produit par une trompe à eau barbotait dans le liquide des flacons. On arrêtait l'action en même temps en portant la série pendant un quart d'heure à 115°, et les mélanines étaient dosées par la méthode exposée ci-dessus.

Une première expérience a donné après 18 heures les chiffres suivants :

	Poids de mélanine dosée.
I. — Témoin.....	33 milligrammes.
II. — Milieu neutre à la phtaléine.....	45,5
III. — Alcalinité N/1000.....	67
IV. — Milieu neutre à l'hélianthine.....	10
V. — Acidité N/1000.....	9

On voit que pour ces différents milieux plus ou moins saturés par la soude ou par l'acide sulfurique, la réaction à laquelle correspond le poids le plus élevé de produits d'oxydation insoluble est une certaine alcalinité à la phtaléine. L'acidité est nettement défavorable. Ces résultats ne concordent pas avec ceux fournis par le seul examen des colorations, le contenu du vase IV est incolore après dix minutes, alors que I et II sont déjà bien rouges. En étudiant dans les expériences données plus loin l'action des

(1) G. BERTRAND ET ROSENBLATT ont montré en effet que la tyrosinase agit de la même façon sur la tyrosine droite et la tyrosine gauche. *Ann. Inst. Past.*, t. XXII, p. 425, 1908.

alcalis et en particulier de la soude, j'ai observé que dans les cas où l'on retient l'acide carbonique de l'air, la coloration du liquide dans les flacons contenant une quantité de soude, qui pourtant permettra d'obtenir la plus grande quantité de mélanines après 24 heures, n'apparaît souvent qu'après plusieurs heures. On ne peut donc jamais rien conclure de précis du simple examen des colorations, surtout pendant les premiers instants.

Action des acides forts. — J'ai étudié comparativement l'action des acides phosphorique et sulfurique. Pour un témoin donnant, après 22 heures, 16 milligrammes de mélanines, on en obtient seulement 11^{mgr},5 dans une solution N/2000 d'acide phosphorique, 8 milligrammes dans une solution N/1000 du même acide et le même poids pour cette même concentration en acide sulfurique, et 5^{mgr},5 dans une solution N/500 de ce dernier acide. Les acides sulfurique et phosphorique agissent donc comme empêchants et de façon équivalente pour une même concentration moléculaire. Le cas est analogue à celui observé pour la laccase par G. Bertrand (1). L'acide carbonique retarde un peu pendant les premiers temps la coloration des liquides tyrosinasiques.

Action des sels neutres à l'hélianthine. — J'ai noté antérieurement l'inactivité de l'acide borique. Le phosphate monosodique se comporte de même. Pour un témoin donnant 16 milligrammes de mélanines on obtient, pour des concentrations en phosphate monosodique N/1000, N/500, N/100, respectivement 15^{mgr},5, 17^{mgr},5, 14^{mgr},5; pour un témoin donnant 10 milligrammes, on a obtenu, dans une autre expérience, 11^{mgr},5 avec une concentration N/500 de phosphate monosodique.

Action des sels neutres à la phtaléine. — Le phosphate bisodique et le bicarbonate de sodium sont favorisants; l'optimum est situé vers des doses assez élevées : N/200 à N/100. Le phosphate diammoniacal agit également comme favorisant.

POIDS DE MÉLANINE DOSÉE POUR DES CONCENTRATIONS

	0	N/500	N/200	N/100	N/50
Bicarbonate de Na.	1 ^{re} exp. : 26 mgr.	59 mgr.			
	2 ^e exp. : 30 mgr.,5		78 mgr.	66 mgr.,5	40 mgr.
Phosphate bisodique..	1 ^{re} exp. : 10 mgr.	34 mgr.,5			
	2 ^e exp. : 32 mgr.			76 mgr.	69 mgr.

(1) *Ann. Inst. Past.*, t. XXI, p. 673, 1907.

Action des sels alcalins à la³phtaléine et des alcalis libres. — Le carbonate de sodium, le phosphate trisodique et la soude libre agissent d'abord comme favorisants, jusqu'à la concentration optima N/500 environ, puis sont nettement défavorables. Les expériences sur la soude et le phosphate trisodique ont été faites en faisant passer dans les liquides un courant d'air préalablement purgé d'acide carbonique par barbotage dans des laveurs à potasse et à eau de baryte.

POIDS DE MÉLANINE DOSÉE POUR DES CONCENTRATIONS

	0	Neutralité à la phtal.	N/1000	N/500	N/2000	N/100	N/5
Soude.	1 ^{re} exp. : 26 mgr.	31 mgr.,5	54 mgr.	66 mgr.			
	2 ^e exp. : 26 mgr.			56 mgr.			
	3 ^e exp. :	30 mgr.		58 mgr.	1 mgr.,5		
CO ₃ Na ²	1 ^{re} exp. : 32 mgr.			59 mgr.		12 mgr.	6 mgr.
	2 ^e exp. : 26 mgr.			59 mgr.			
	3 ^e exp. : 28 mgr.			63 mgr.			
PO ₄ Na ³	1 ^{re} exp. : 24 mgr.,5		42 mgr.		3 mgr.,5		
	2 ^e exp. : 10 mgr.			40 mgr.			
	3 ^e exp. : 32 mgr.			80 mgr.	0		

De cet ensemble d'expériences on peut tirer les conclusions suivantes : les acides forts diminuent les rendements en produits d'oxydation insolubles; les acides et sels neutres à l'hélianthine sont parfaitement inactifs; les sels neutres à la phtaléine et alcalins à l'hélianthine sont favorables à la formation de ces corps, même à des doses relativement élevées, leur optimum étant situé vers une concentration N/200; les sels alcalins à la phtaléine et la soude libre sont favorisants jusqu'à la dose N/500 puis rapidement défavorables après cet optimum.

A-t-on le droit de considérer les produits d'oxydation insolubles obtenus dans ces diverses expériences comme étant toujours formés par une même mélanine? Le poids de ces produits peut-il servir de mesure à la marche du phénomène d'oxydation diastasiqne? Il ne semble pas qu'on puisse identifier, dès à présent, les mélanines obtenues en milieu alcalin artificiel avec celles qui précipitent dans le milieu naturel non additionné de réactifs.

Tout d'abord, en milieu alcalin, on n'a pas le passage par la coloration rouge grenadine, mais de suite une coloration brune. Les mélanines obtenues dans les témoins ne paraissent pas avoir les mêmes propriétés de coagulation que celles des liquides additionnés de réactifs neutres ou alcalins à la phtaléine; dans

les témoins, après précipitation des mélanines par la méthode indiquée, une légère coloration du liquide surnageant subsiste toujours, alors que dans les autres, ce liquide est le plus souvent parfaitement incolore; s'il est coloré, dans ce dernier cas, il reprécipite intégralement par acidification (1), ce que ne fait jamais le liquide du témoin. Une différence plus importante encore est celle du rendement : en présence de phosphate bisodique, par exemple, j'obtiens d'emblée 78 de mélanine pour cent de tyrosine, en présence de bicarbonate 76 0/0, en présence de triphosphate trisodique 80 0/0. Or, G. Bertrand et Rosenblatt, oxydant à fond la tyrosine par la tyrosinase sans modifier la réaction naturelle, n'ont jamais obtenu plus de 60 de mélanine p. 100 de tyrosine.

La méthode que j'indique permet, en y alliant la centrifugation, de préparer rapidement de grandes quantités de mélanines; on pourra ainsi se rendre compte de la non identité ou de l'identité des produits formés dans les conditions naturelles et dans les milieux alcalinisés. En attendant, il ne peut être permis de conclure, de l'obtention de quantités de produits insolubles plus grandes, à une action favorisante sur le phénomène diastasique d'oxydation; la mesure des échanges gazeux, alliée à l'analyse des produits insolubles, serait seule en dehors de toute critique.

(1) Il est nécessaire, dans le dosage des mélanines dans des milieux de réactions variées, de toujours constater que le liquide filtré, s'il est coloré, ne précipite pas par acidification; dans ce dernier cas, on filtrera à nouveau le liquide où une nouvelle quantité de mélanine a été précipitée et on tiendra compte, dans le dosage total, du poids de produit ainsi obtenu.